

Aus dem Bereich Klinische Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Schnelltest zum Nachweis einer Helicobacter pylori-Infektion bei Kindern.

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2007

vorgelegt von Jürgen Robert Strein

geb. am 12. September 1970 in Offenbach am Main

Aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Ludwig Gortner
Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Friedrich Carl Sitzmann

Für meine Lehrer

***„Es gibt keine grossen Entdeckungen und Fortschritte,
solange es noch ein unglückliches Kind auf Erden gibt“.***

Albert Einstein

***„Das Gesetz der Liebe liesse sich am leichtesten durch das
Beispiel der Kinder verstehen und erlernen“.***

Mahatma Gandhi

INHALTSVERZEICHNIS

1	ZUSAMMENFASSUNG	8
1.1	<i>Schnelltest zum Nachweis einer Helicobacter pylori-Infektion bei Kindern</i>	8
1.2	<i>Quick test to prove helicobacter pylori infection in children.....</i>	9
2	EINLEITUNG	10
2.1	<i>Fragestellung</i>	10
2.2	<i>Historischer Überblick</i>	11
2.3	<i>Epidemiologie</i>	12
2.4	<i>Virulenzfaktoren und Eigenschaften von H. pylori</i>	15
2.5	<i>Nachweisverfahren der Helicobakter pylori-Infektion</i>	19
2.5.1	Urease-Test.....	20
2.5.2	Histologische Nachweisverfahren	20
2.5.3	Mikrobiologischer Nachweis	21
2.5.4	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	22
2.5.5	In-situ-Hybridisierung	23
2.5.6	Atemtest.....	23
2.5.7	Antikörper Tests	25
2.5.7.1	ELISA	28
2.5.7.2	Immunhämagglutinationstest	28
2.5.7.3	Immunoblot	29
2.5.7.4	Speicheltest.....	29
2.5.8	Enzym-Immunoassay (EIA) Premium Platinum HpSA	30
2.5.9	Enzym-Immunoassay (EIA) FemtoLab H. pylori Cnx	33
2.5.10	Fadentest	39
2.6	<i>Helicobacter pylori assoziierte Erkrankungen</i>	39
2.6.1	Immunantwort und entzündliche Veränderungen	39
2.6.2	Ulcus ventriculi und Ulcus duodeni	41
2.6.3	Gastroösophageale Refluxerkrankung (GORD)	42
2.6.4	Funktionelle Dyspepsie	43

2.6.5	Magenkarzinom	44
2.6.6	MALT-Lymphom	45
2.6.7	Riesenfaltengastritis	45
2.6.8	H. pylori-Infektion im Kindesalter	46
2.6.9	ESPGHAN-KONSENSUS.....	46
2.7	Therapie der H. pylori-Infektion	47
2.7.1	Unkomplizierter Ulcus	47
2.7.2	Blutendes Ulkus	50
2.7.2.1	Intravenöse Therapie	51
2.7.2.2	Orale Therapie	51
2.7.2.3	Standarddosens der Protonenpumpenhemmer	51
2.7.3	Therapie der Helicobacter pylori-Infektion in der Pädiatrie.....	52
2.7.3.1	Empfohlene Eradikationstherapie im Kindesalter,.....	54
2.7.4	Primäre Therapieschemata und „Rescue-Therapien“ zur Eradikationsbehandlung der H.-pylori-Infektion	55
2.7.4.1	Primäre Therapieschemata	55
2.7.4.2	Rescue-Therapieschemata	56
3	PATIENTEN UND METHODEN.....	57
3.1	Patienten.....	57
3.2	Methoden.....	58
3.2.1	Enzymimmunoassay (EIA)	58
3.2.2	Pyloriset Screen II	59
3.2.3	Testdurchführung FemtoLab H. pylori Cnx	60
3.3	Nachweis einer H. pylori-Infektion.....	62
3.3.1	Messung bei Wellenlänge 450nm	62
3.3.2	Nachweisgrenze	62
3.4	Evaluierung des Pyloriset Screen II bei Erwachsenen	63
3.5	Statistik.....	67
4	ERGEBNISSE	69
4.1	Direkter Vergleich der Testverfahren	69
4.2	Vergleich aus der Perspektive des jeweiligen Tests	70
4.2.1	Ergebnis aus der Perspektive des Pyloriset Screen II	70
4.2.2	Ergebnis aus der Perspektive des FemtoLab H. pylori Cnx	71
4.3	Präzision des Pyloriset Screen II	73
4.4	Atemtest vor Studienbeginn.....	76
4.5	Gastroskopie.....	77

5	<i>DISKUSSION</i>	<i>78</i>
6	<i>LITERATURVERZEICHNIS</i>	<i>84</i>
7	<i>PUBLIKATION UND DANKSAGUNG</i>	<i>100</i>
7.1	<i>Publikation</i>	<i>100</i>
7.2	<i>Danksagung</i>	<i>102</i>
8	<i>LEBENS LAUF.....</i>	<i>104</i>

1 ZUSAMMENFASSUNG

1.1 Schnelltest zum Nachweis einer *Helicobacter pylori*-Infektion bei Kindern

Helicobacter pylori spielt eine herausragende Rolle in der Pathogenese verschiedener gastroduodenaler Erkrankungen. Durch die Charakterisierung von *Helicobacter pylori* wurden entscheidende Befunde erhoben, die die Pathogenität dieses Bakteriums beweisen und das Wissen über die gastroduodenalen Erkrankungen erweitert und revolutioniert haben. Die Ergebnisse aus der *Helicobacter pylori*-Forschung haben Änderungen in der Klassifikation als auch eine Verbesserung von Diagnostik und Therapie der *Helicobacter pylori*-Infektionen bewirkt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Bedeutung eines Vollblutschnelltests (Pyloriset Screen II, Fa. Orion Diagnostica) durch Vergleich mit einem Enzym-Immunoassay im Stuhl (FemtoLab pylori Cnx, Fa. DAKO) an einer pädiatrischen Population zu evaluieren. Der *Helicobacter pylori*-Infektionsstatus wurde mittels eines kommerziellen Vollblutschnelltests (Pyloriset Screen II, Fa. Orion Diagnostica) qualitativ erfasst. Als Referenzmethode der Evaluierung wurde ein kommerzielles Enzym-Immunoassay (FemtoLab pylori Cnx, Fa. DAKO) der Patientenstuhlproben durchgeführt. Dabei wurde für den Vollblutschnelltest (Pyloriset Screen II, Fa. Orion Diagnostica) eine Sensitivität von 45,5%, eine Spezifität von 97,4%, eine Effizienz von 85,7%, ein positiv prädiktiver Wert von 83,3% und ein negativ prädiktiver Wert von 86,1% evaluiert. Für epidemiologische Untersuchungen und als Screeningmethode insbesondere bei pädiatrischen Patienten stellt der Vollblutschnelltest wegen der geringen Sensitivität kein geeignetes Verfahren dar.

1.2 Quick test to prove helicobacter pylori infection in children.

Helicobacter pylori plays a major role in the pathogenesis of various gastro-duodenal diseases. By characterising *helicobacter pylori*, decisive findings were established which prove the pathogeneity of this bacterium and which have expanded and revolutionised the knowledge about gastro-duodenal diseases. The results from the *helicobacter pylori* research have effected changes in the classification and improvement of diagnostics and therapy of the *helicobacter pylori* infections.

The aim of the present work was to evaluate the significance of a full blood quick test (Pyloriset Screen II, from Orion Diagnostica) through comparison with an enzyme immunoassay in stool (FemtoLab pylori Cnx, from DAKO) in a paediatric population. The *helicobacter pylori* infection status was qualitatively recorded by means of a commercial full blood quick test (Pyloriset Screen II, from Orion Diagnostica). A commercial enzyme immunoassay (FemtoLab pylori Cnx, from DAKO) of the patient stool samples was conducted as a reference method of the evaluation. A sensitivity of 45.5%, a specificity of 97.4%, an efficiency of 85.7%, a positive predictive value of 83.3% and a negative predictive value of 86.1% were evaluated for the full blood test (Pyloriset Screen II, from Orion Diagnostica). Because of the low sensitivity the full blood quick test does not represent a suitable method for epidemiological examinations and as a screening method, in particular with paediatric patients.

2 *EINLEITUNG*

2.1 *Fragestellung*

Dissertationsthema: Schnelltest zum Nachweis einer *Helicobacter pylori*-Infektion bei Kindern.

Ziel der Untersuchung war es insbesondere, Alternativen zum ^{13}C -Harnstoff - Atemtest für die Ermittlung des *H. pylori*-Infektionsstatus herauszuarbeiten, da dieser bei Kleinkindern und Säuglingen im Vergleich zu Erwachsenen nicht einfach durchführbar ist. Ein Vollblutschnelltest (Pyloriset Screen II, Fa. Orion Diagnostica) wurde im Vergleich mit einem Enzymimmunoassay im Stuhl (FemtoLab pylori Cnx, Fa. DAKO) an einer pädiatrischen Population evaluiert. Unsere Studienergebnisse wurden in Bezug auf Durchseuchungsrate, Sensitivität, Spezifität, positiven und negativen prädiktiven Vorhersagewert und diagnostische Genauigkeit mit anderen Studien pädiatrischer und nicht-pädiatrischer Populationen verglichen und diskutiert. Es wurde überprüft, ob der zu evaluierende Vollblutschnelltest in der täglichen Praxis als Screening-Methode bei Kindern einsetzbar ist.

2.2 Historischer Überblick

Vor der Entdeckung von *Helicobacter pylori* wurde in erster Linie die gesteigerte Säuresekretion des Magens in Zusammenhang mit gestörten Schutzmechanismen der Magenschleimhaut für die Entstehung eines Ulkusleidens angesehen. Es fanden immer wirksamere Säuresekretionshemmer, zuerst die H₂-Blocker und später die Protonenpumpenhemmer in der Therapie der Ulkusleiden Anwendung. Im Jahre 1983 berichtete der australische Pathologe Robin Warren in einem Brief an den *Lancet* von der häufigen Assoziation zwischen aktiver chronischer Gastritis und der Gegenwart nicht näher identifizierter gebogener Bakterien in der Magenschleimhaut (WARREN, MARSHALL 1983). Warren und Marshall stellten identische Bakterien bei einem hohen Prozentsatz der Patienten mit aktiv-chronischer Gastritis und Ulzera duodeni und auch bei der Hälfte der Patienten mit Ulzera ventriculi im Magenantrum fest (MARSHALL, WARREN 1984). Der Gastroenterologe Barry Marshall beschrieb die erstmalige kulturelle Anzüchtung und mikrobiologische Charakterisierung dieser Keime, zunächst bezeichneten sie die Bakterien als „campylobacter-like-organismus“ und später als *Campylobacter pyloridis* (MARSHALL, WARREN 1984). Im Jahre 1984 wurde das Bakterium aus grammatikalischen Gründen in *Campylobacter pylori* und nach biochemischer und molekularbiologischer Charakterisierung in *Helicobacter pylori* umbenannt (GOODWIN ET AL. 1989). Durch Selbstversuche von Marshall, der durch Ingestion einer Bakteriensuspension von *H. pylori* eine Selbstinfektion herbeiführte, konnte durch anschließende Schleimhautbiopsie der Keim in Kultur wieder angezüchtet werden, damit wurden die Koch'schen Postulate erfüllt (MARSHALL ET AL. 1985).

Seit der ersten kulturellen Anzüchtung durch Marshall und Warren ist der Keim zu einem der meist untersuchten Krankheitserreger geworden und hat unser Wissen über die gastroduodenalen Erkrankungen revolutioniert.

2.3 Epidemiologie

Helicobacter pylori ist weltweit verbreitet. Etwa 50% aller Erwachsenen ab dem 60. Lebensjahr sind mit *H. pylori* infiziert (DOOLEY ET AL. 1989). Die Prävalenz der *Helicobacter pylori*-Infektion variiert stark mit dem geographischen Gebiet, Alter, Ethnie und sozioökonomischem Status. In Entwicklungsländern ist eine höhere Durchseuchung mit *H. pylori* als in Westeuropa und den USA festzustellen (MÉGRAUD 1993, THE EUROGAST STUDY GROUP 1993). Den höchsten Durchseuchungsgrad weisen die Entwicklungsländer auf, aber auch in Japan, Polen oder Griechenland erreicht die Prävalenz der *H. pylori*-Infektion 80% und mehr. In Industrieländern nimmt die Durchseuchung pro Lebensjahr 0,3-1% zu, in Entwicklungsländern 1,9% pro Jahr und mehr (TREIBER, OPFERKUCH 2000). In entwickelten Industriestaaten muß bei etwa 10-15% aller an klinisch relevanten dyspeptischen Beschwerden leidenden Kindern und Jugendlichen mit einer *Helicobacter pylori*-Infektion gerechnet werden (RADKE 1994). Die Prävalenz kann in Entwicklungsländern bereits im Kindesalter bis zu 80% betragen, im Vergleich sind in den USA ca. 45% der Bevölkerung *H.p.*-positiv (MÉGRAUD 1989). In einer Thailändischen Studie der University Chiang Mai mit 83 Kindern wurden organische Ursachen in 44,7% der Fälle in Verbindung mit *Helicobacter pylori*-Gastritis als häufigste Diagnose für rezidivierende Bauchschmerzen bei Kindern gefunden (UKRAPOL ET AL. 2004).

Eine Studie mit 98 Kindern in der Provinz Shandong in China zeigte eine Durchseuchungsrate mit *H.pylori* von 70% der Kinder im Alter von 5-6 Jahren. Die gleiche Durchseuchungsrate zeigte auch eine Untersuchung Erwachsener in selbiger Gegend (MORRIS-BROWN 2000). Offensichtlich finden die meisten Infektionen bereits im Kindes- und Jugendalter statt. Innerhalb von Familien zeigt sich eine erhöhte Infektionsrate (DRUMM ET AL. 1990, MALATY ET AL. 1992). Die Infektion innerhalb der Familie scheint eine Hauptrolle bei der Übertragung von *H. pylori* zu spielen. DRUMM ET AL. konnten in einer Studie bei 83,3% der Mütter von 27 *H. pylori*-positiven Kindern ebenfalls den Keim nachweisen. Bei 53 *H. pylori*-negativen Kindern war nur bei 11,8% der Mütter eine *H. pylori*-Infektion festzustellen (DRUMM ET AL. 1990). Die Serokonversionsraten liegen bei Kindern in der westlichen Welt mit 0,2 - 1% sehr niedrig, was einen deutlichen Rückgang der Prävalenz in Industrieländern zur Folge hat (XIA ET AL. 1997). Populationen mit schlechten sozialen und hygienischen Verhältnissen zeigen bei über 90% der Erwachsenen eine Durchseuchung mit *H. pylori* (MÉGRAUD ET AL. 1989). Es existieren auch Berichte von Populationen mit einer extrem niedrigen Durchseuchung. Serologisch wurde bei australischen Ureinwohnern eine Durchseuchungsrate von weniger als 1% und bei einer Bevölkerungsgruppe im Nordosten von Malaysia von etwa 4% eruiert. Die Ursache dafür ist unklar (TREIBER, OPFERKUCH 2000). In einer Studie von Parsonnet et al. beträgt der Anteil von *cagA*-positiven Stämmen innerhalb der schwarzen amerikanischen Bevölkerung 79,4%, bei der spanischen Bevölkerung 63,8% und bei der weißen Bevölkerung 50% (ZAMBON ET AL. 2004). Innerhalb der schwarzen Bevölkerung der USA zeigte sich einkommensunabhängig eine erhöhte Prävalenz von *Helicobacter pylori*-Infektionen im Vergleich zur weißen Bevölkerung.

Diese Tatsache legt eine genetisch determinierte Disposition zur Helicobakter pylori-Infektion nahe (MALATY ET AL. 1992). Eine Zwillingsstudie erhärtet die These der genetisch determinierten Infektanfälligkeit. Bei insgesamt 269 Zwillingspaaren war die paarweise Konkordanz einer H. pylori-Infektion bei getrennt aufwachsenden monozygoten Zwillingen 69%, bei heterozygoten Zwillingen zeigte sich nur eine paarweise Konkordanz von 38% (TREIBER, OPFERKUCH 2000). Eine Untersuchung von Bründler et al. bestätigte, dass bei Kindern unter 10 Jahren die chronische Gastritis seltener mit H. pylori assoziiert ist als bei Kindern über 10 Jahren, in deren Gruppe eine Infektionsrate von 60% gefunden wurde (BRÜNDLER, MARCHETTI, BELLI, BORISCH 1997). In den epidemiologischen Studien zur Prävalenz der H.pylori-Infektion zeigte sich durch Vergleiche der Prävalenzraten verschiedener Lebensalter ein sogenanntes Kohortenphänomen. Dabei liegt die Prävalenz im höheren Lebensalter deutlich höher, während die Prävalenz bei Kindern der letzten Dekaden kontinuierlich abnimmt. In den Studien von KUIPERS ET AL. und SIPPONEN ET AL. wurde ein Rückgang von 10% pro Lebensdekade prognostiziert. Diese Tatsache ist am deutlichsten in Industrieländern zu beobachten und kann durch die verbesserten hygienischen Bedingungen insbesondere der Kindheit erklärt werden (KUIPERS ET AL. 1993 und SIPPONEN ET AL.1994). Hauptproblem ist die schlechte ökonomische Situation in der Kindheit; ein späterer sozialer Aufstieg ändert die Infektionshäufigkeit nicht mehr wesentlich. Als wichtigste Ursachen für eine H. pylori-Infektion wurden beengte Wohnverhältnisse, hohe Geschwisterzahl, fehlende Warmwasserversorgung, Gemeinschaftstoiletten sowie eine Dyspepsie-Erkrankung der Eltern eruiert (TREIBER, OPFERKUCH 2000). Der Infektionsmodus ist noch nicht endgültig aufgeklärt, höchstwahrscheinlich erfolgt die Übertragung von Mensch auf Mensch.

Der Keim konnte im Stuhl von infizierten Patienten nachgewiesen werden, was eine fäkal-orale Infektion nahe legt. Wahrscheinlich ist auch eine oral-orale Übertragung, da sich *H. pylori* auch im Oropharynx und in Zahnplaques nachweisen lässt (HACKELSBERGER, MALFERTHEINER 1995).

Auch der gastro-orale Übertragungsweg (zum Beispiel eine Keimübertragung im Rahmen zyklischen Erbrechens im Rahmen eines Virusinfektes oder durch gastro-ösophagealen Reflux) kann als Übertragungsweg in Frage kommen. Dafür spricht die Tatsache, dass *H. pylori* in Aerosolen im Rahmen von induziertem Erbrechen gefunden und angezüchtet werden konnte. Dabei stieg ebenfalls die Häufigkeit des Nachweises von *H. pylori* im Speichel stark von 19% auf 56% an. Tiere könnten ein weiteres Keimreservoir für die *H. pylori*-Infektion darstellen. *H. pylori* wurde in den Mägen von Pferden, Kälbern und Schweinen nachgewiesen, bei Kaninchen und Hühnern wurde kein *H. pylori* gefunden. Hausfliegen sind als Überträger von *H. pylori* als unwahrscheinlich anzusehen. Insgesamt muss festgestellt werden, dass bezüglich der Bedeutung von Tieren als Keimreservoir und Ansteckungsquelle keine sicheren Aussagen getroffen werden können (TREIBER, OPFERKUCH 2000). Zusammenfassend kann für die Industrieländer aus den vorliegenden Daten ein langsamer Rückgang der Prävalenz der *Helicobacter pylori*-Infektion für die nächsten Jahrzehnte prognostiziert werden (KUIPERS ET AL. 1993).

2.4 Virulenzfaktoren und Eigenschaften von *H. pylori*

Die Gattung *H. pylori* ist ein Hauptvertreter der Epsilon-Untergruppe der Proteobacteria (MADIGAN, MARTINKO, PARKER 2000).

H. pylori ist ein gramnegatives, spiralförmiges oder gebogenes Stäbchenbakterium mit 2-6 unipolaren an einem Pool entspringenden Flagellen. *H. pylori* ist 2,4-4,0 µm lang und 0,5-1,0 µm breit. Durch Rotation der Flagellen besitzt *H. pylori* die Fähigkeit sich mittels rascher schraubenförmiger Bewegungen durch die Schleimhaut des Magens zu bewegen. Morphologisch entspricht die Zellwand des *H. pylori* dem Aufbau einer gramnegativen Zellwand aus innerer Zytoplasmamembran, dünner Mureinschicht und äußerer Membran (SUERBAUM 2000). Das 1,65 Millionen Basenpaare umfassende Genom des *H. pylori* kodiert für ca. 1500 Proteine (ALM, LING, MOIR 1999; TOMB, WHITE, KERLAVAGE 1997). Bei nur wenigen dieser Proteine ist die Funktion bekannt. Durch spezialisierte Sensorproteine ist *H. pylori* in der Lage, sich an Substanzgradienten im Magenschleim zu orientieren und die optimale Position knapp oberhalb der Epithelzellen zu finden. Bei dieser Orientierung spielt der transmukosale pH-Gradient eine herausragende Rolle (SCHREIBER, KONRADT, GROLL 2004). Die äußere Membran gramnegativer Bakterien enthält als einen wichtigen Baustein Lipopolysaccharid (LPS), das als Endotoxin wirkt. Bei *H. pylori* besitzt Lipopolysaccharid (LPS) eine charakteristische Zusammensetzung, die für die toxische Wirkung des LPS verantwortlich ist (LABIGNE, REUSE 1996; SUERBAUM 2000). *H. pylori* ist säureempfindlich und findet im alkalischen Milieu direkt an der Oberseite unterhalb des Mukus günstige Vermehrungsbedingungen. Die schwierige kulturelle Anzucht gelingt aufgrund hoher Nährstoffansprüche am besten unter mikroaerophilen Bedingungen mit 5% Sauerstoff und 5-15% Kohlendioxid bei 37°C auf Blut- oder Schokoladenagar (JASPERSEN 1996). *H. pylori* produziert in grossen Mengen Urease, entsprechend mehr als 6% des Gesamtbakterienproteins entfallen auf die Urease (LABIGNE, REUSE 1996; MARAIS ET AL. 1999).

Urease ist ein nickelhaltiges Enzym, das Harnstoff durch Hydrolyse in Ammoniak und Kohlendioxid katalysiert. Das Protein Urease besteht aus zwei Untereinheiten von 66 und 29,5 kDa (HACKELSBERGER, MALFERTHEINER 1995). *H. pylori* ist in der Lage Urease aus der Zelle auszuschleusen und partiell auf der Zelloberfläche anzulagern, um die Magensäure zu neutralisieren und dadurch das Bakterium vor sauren Einflüssen zu schützen (MARAIS ET AL. 1999). Eine zweite essentielle Funktion von Urease könnte die Bereitstellung von Ammoniak als Stickstoffquelle für die Aminosäuresynthese von *H. pylori* sein. (SUERBAUM 2000). Die Analyse der Genom-Sequenz von *H. pylori* führt zur Hypothese, dass die Bakterien im Stande sind, mehrere Substrate als Stickstoffquelle, einschließlich des Harnstoffs, des Ammoniaks und der Aminosäuren Alanin, Serin und Glutamin zu nutzen (MARAIS, MÉGRAUD, MONTEIRO 1998). Die bei der Reaktion von Ammoniak mit Wasser entstehenden Hydroxylionen sind für Epithelzellen toxisch und tragen wahrscheinlich zur Schleimhautschädigung bei. Ultrastrukturelle Untersuchungen zeigen, dass *H. pylori* Adhäsine ausbildet, die eine feste und spezifische Bindung an Rezeptoren der Epithelzelle bewirken können (SUERBAUM 2000). Von den Adhäsinen wurden bisher zwei detailliert charakterisiert: Die Proteine BabA und SabA vermitteln die Bindung an glykosylierte Blutgruppenantigene (ILVER, ARNQVIST, OGREN 1998, MAHDAVI, SONDEN, HURTIG, 2002). Die Adaption an die Oberflächen-antigene der Wirtsepithelzellen erfolgt durch Rekombination zwischen unterschiedlichen Adhäsingenen. *Helicobacter pylori* imponieren durch ihre herausragende genetische Variabilität. Das bedeutet, dass jeder mit *H. pylori* infizierte Patient durch die hohe Mutationsrate und der Fähigkeit der Rekombination des Bakteriums seinen individuellen Bakterienstamm in sich trägt (FALUSH, KRAFT, TAYLOR 2001; SUERBAUM, MAYNARD SMITH, BAPUMIA 1998).

Infolge Kondensation von Aktin und Ausbildung von podestartigen Zellfortsätzen bilden sich unterhalb der Anlagerungsstelle sog. Adhärenzplattformen, wobei auf der cag-Pathogenitätsinsel lokalisierte Gene beteiligt sind. Das 128-140 kDa-Protein CagA (cytotoxin-associated gene) ist ein stark immunogenes Antigen. In den USA und Europa bilden 70% der H.pylori-Stämme und in Asien praktisch alle Stämme CagA. Cag-positive Stämme sind signifikant häufiger mit Ulkuskrankheit, Karzinom und Malt-Lymphomen assoziiert als cag-negative Stämme. Bei cag-positiven Stämmen erfolgt eine wesentlich stärkere Freisetzung von Entzündungsmediatoren, insbesondere Interleukin 8 (SUERBAUM 2000). Helicobacter pylori bildet ein sogenanntes vakuolisierendes Zytotoxin (VacA), ein 87 kDa-Protein, das durch aktiven Transport aus der Bakterienzelle in das umgebende Milieu sezerniert wird und dort eine Zellschädigung durch die Auflockerung von Kontaktstellen bewirkt, die sich morphologisch als eine Vakuolisierung des Zytoplasmas darstellt und Apoptose induziert (BLASER, ATHERTON 2004). Das für das Toxin kodierende vacA-Gen ist in allen H. pylori-Stämmen vorhanden. Auf ungünstige Umweltbedingungen reagieren Bakterien als auch eukaryontische Zellen mit Bildung sogenannter Hitzeschockproteine (HSP, Chaperonproteine). H. pylori bildet die beiden Hitzeschockproteine HspA und HspB. Gegen HspB wird aufgrund der antigenen Eigenschaften im Verlauf der Infektion ein hoher Antikörpertiter ausgebildet. HspA besitzt eine charakteristische nickelbildende Struktur am carboxyterminalen Ende, die wahrscheinlich eine Funktion für den Einbau von Nickel in das Ureasemolekül besitzt (SUERBAUM 2000).

2.5 Nachweisverfahren der *Helicobakter pylori*-Infektion

Es steht eine Vielzahl von diagnostischen Möglichkeiten zum Nachweis von *H. pylori* zur Verfügung. Die gängigen Verfahren werden durch die Lokalisation und die charakteristischen Eigenschaften von *H. pylori* bestimmt. Die Nachweismethoden lassen sich in invasive und nicht-invasive Methoden unterteilen. Keine der Nachweismethoden erfüllt die Kriterien des so genannten Goldstandards. Durch das Fehlen eines Goldstandards ist das Vergleichen der Wertigkeit bestimmter Nachweismethoden schwierig. Wird ein ungeeigneter Goldstandard gewählt, kann der zu evaluierende Test schlechtere Ergebnisse bezüglich der Sensitivität und Spezifität zeigen. Durch das Fehlen eines Goldstandards werden üblicherweise mehrere Testverfahren angewandt und eine Infektion mit *H. pylori* nur angenommen, wenn die Mehrzahl der durchgeführten Verfahren ein positives Ergebnis zeigte (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997). In einer Studie von CUTLER ET AL. wurde bei 268 Erwachsenen anhand von 7 verschiedenen Parametern der *H. pylori*-Infektionsstatus ermittelt. Nur 83 Personen waren in allen 7 Kriterien positiv und 51 Personen waren komplett negativ. Bei den restlichen 134 Personen zeigten sich divergente Testergebnisse (CUTLER ET AL. 1995). Probleme bereiten auch die unterschiedlichen Testbedingungen, Testung verschiedener Populationen, z.B. Kinder versus Erwachsene oder deutsche versus ausländische Patienten. Mit Ausnahme serologischer Nachweisverfahren werden vermehrt falsch negative Resultate erzielt, wenn 4 Wochen vor Test Antibiotika, Antazida, Wismuthpräparate, H₂-Rezeptorantagonisten oder Protonenpumpenblocker eingenommen wurden (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997).

Bei invasiven Methoden erfolgt der Nachweis der Infektion anhand von Biopsiematerial, das während einer Gastroduodenoskopie aus dem Magen der Antrum- und Korpusregion entnommen wird. Das gewonnene Biopsiematerial dient zur weiteren Diagnostik, insbesondere zur Durchführung des Nachweises der Ureaseaktivität sowie histologischer, mikrobiologischer und molekularbiologischer Methoden.

2.5.1 Urease-Test

Das Prinzip des Urease-Tests beruht auf der beachtenswerten Ureaseproduktion von *H. pylori*. Dabei wird das zu testende Biopsiematerial in ein Medium mit Harnstoff (Agar oder Flüssigkeit) überführt. Bei Vorhandensein von mehr als 10.000 Keimen spaltet die Urease des *H. pylori* den Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997). Durch das entstandene Ammoniak kommt es zu einer pH-Wert-Verschiebung in den alkalischen Bereich, wodurch eine Farbindikatorreaktion einen Farbumschlag bewirkt und das Vorhandensein des Keims anzeigt. Der optimale Harnstoffgehalt des Mediums beträgt 2-6%. Unter optimalen Bedingungen erfolgt der Farbumschlag häufig bereits nach 30 Minuten. Bei einer einzelnen Biopsie erreicht der Urease-Test eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 95%. Bei gleichzeitiger Durchführung des Urease-Tests an einer zweiten Biopsie kann die Sensitivität auf 95% angehoben werden. Im direkten Vergleich mit anderen klinisch etablierten und zeitaufwendigen Verfahren wie dem ¹³C-Atemtest, erweist sich der Urease-Test als gleichwertig.

2.5.2 Histologische Nachweisverfahren

Als integraler Bestandteil jeder Gastroduodenoskopie sollten bei Kindern und Erwachsenen je 2 Biopsien aus Antrum und Korpus des Magens entnommen werden.

Bereits anhand der histologischen Routinefärbung mit Hämatoxylin und Eosin (HE) kann ein Nachweis von *H. pylori* erfolgen. Die Warthin-Starry-Färbung ist eine Silber-Spezialfärbung, die für eine optimale Kontrastierung der Mikroorganismen sorgt. Die modifizierte Giemsa-Färbung hat sich neben der Warthin-Starry-Färbung durch niedrigere Kosten und einen geringeren methodischen Aufwand etabliert. Das histologische Nachweisverfahren ist von der Erfahrung des Pathologen abhängig. Um eine niedrigere Interobserver-Variabilität und eine höhere Spezifität zu erreichen, werden in der klinischen Praxis immunhistochemische Nachweisverfahren mittels spezifischer gegen *H. pylori* gerichteter Antikörper angewandt. Bei der histologischen Untersuchung erfolgt neben dem *H. pylori*-Nachweis insbesondere eine Beurteilung der Magenschleimhaut. Besonders bei niedriger Keimzahl kommt es bei histologischen Nachweisverfahren zu falsch negativen Ergebnissen. Unter Berücksichtigung verschiedener Studien beträgt die Sensitivität und Spezifität bei den histologischen Nachweisverfahren mehr als 90% (HACKELSBERGER, MALFERTHEINER 1995; NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000; LEODOLTER MALFERTHEINER 2001). Die Ergebnisse einzelner Autoren schwanken zwischen 85% und 98% (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.3 Mikrobiologischer Nachweis

Die kulturelle Anzüchtung von *H. pylori* aus Biopsien in einem speziellen Medium oder Agar wird als Goldstandard bezüglich der Spezifität des Keimnachweises betrachtet. Nur wenige Keime sind erforderlich, um ein positives Ergebnis zu erzielen. Für die Agar-Kultur werden mindestens zwei Biopsien empfohlen. Um den Keim vor Austrocknung und hoher Sauerstoffkonzentration zu schützen, sind die biopsierten Gewebe in ein geeignetes Transportmedium zu überführen und bei Temperaturen zwischen 4 und 7°C aufzubewahren.

Die Verarbeitung auf dem Kulturmedium sollte so rasch wie möglich innerhalb weniger Stunden erfolgen. Bei den bevorzugten Kulturmedien handelt es sich um Kochblutagar oder Wilkins-Chalgren-Agar mit Zusatz von Erythrozyten-konzentrat und weiterer selektiver Substanzen, die eine Kontamination mit anderen Mikroorganismen verhindern. Das Ergebnis der Keimanzüchtung liegt erst nach 5 bis 10 Tagen vor. Die kulturelle Anzüchtung findet insbesondere bei Resistenzprüfungen verschiedener Antibiotika Verwendung und es besteht die Möglichkeit, anhand molekulargenetischer Techniken den Stamm des angezüchteten Keims zu eruieren (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997; NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.4 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Mittels der Polymerasekettenreaktion (PCR) können bereits Äquivalente von 2 *Helicobacter pylori* Genomen nachgewiesen werden. In der Praxis werden für *H. pylori* spezifische Gene, insbesondere das für die Toxinaktivität codierende VacA-Gen und das zytotoxinassoziierte Antigen(cagA)-Gen, aus Biopsiematerial direkt durch PCR-Amplifikation nachgewiesen.

Die PCR wird vor allem zur Klassifizierung der einzelnen Virulenzfaktoren zur Beurteilung des Risikoprofils der Patienten und für epidemiologische Studien eingesetzt. Mittels spezifischer PCR-Typisierungsmethoden ist es möglich den Verbreitungsweg verschiedener Stämme nachzuvollziehen (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

Falsch positive Ergebnisse können durch Kontamination z.B. von Instrumenten entstehen (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997).

2.5.5 In-situ-Hybridisierung

Die In-situ-Hybridisierung findet Verwendung zur gleichzeitigen Erfassung von Keim und Antibiotika-Resistenz. Die Bakterien werden mittels fluoreszenzmarkierten Oligonukleotidsonden identifiziert.

Die Bindung der Oligonukleotidsonden erfolgt an charakteristische bakterielle rRNA-Sequenzen und an Antibiotika-Resistenz codierende Sequenzen. Die Beurteilung erfolgt mittels Fluoreszenzmikroskopie, wobei eine Unterscheidung in resistente und sensible Keime getroffen werden kann. Mit der In-situ-Hybridisierung ist es möglich, bakterielle Mischinfektionen nachzuweisen (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.6 Atemtest

Der ^{13}C -Atemtest gilt als der Goldstandard in der nicht-invasiven Diagnostik (LEODOLTER, WOLLE, MALFERTHEINER 2001; ZAMBON ET AL. 2004).

Grundprinzip des Tests ist wie beim invasiven Urease-Schnelltest die Urease-Enzymaktivität, wobei oral zugeführter ^{13}C -Harnstoff, ein natürliches, stabiles und nicht radioaktives Isotop des Kohlenstoffs, zu $^{13}\text{CO}_2$ und Ammoniak (NH_3) hydrolysiert wird. Das $^{13}\text{CO}_2$ wird resorbiert und danach über die Lunge abgeatmet. Der Testvorgang ist einfach und wird nach einem standardisierten Verfahren durchgeführt. Das Testergebnis ist innerhalb weniger Stunden verfügbar und erlaubt somit einen raschen Keimnachweis. Dabei atmet der Patient für die Bestimmung des Basalwerts kräftig ein und bläst die Atemluft in ein entsprechendes Behältnis. Da kein natürlicher Wert des Isotopenverhältnisses im Sinne einer Naturkonstanten besteht, ist der Basalwert, das Isotopenverhältnis von $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, von besonderer Bedeutung für die Auswertung.

Die Basalwertmessung dient der Nullpunktbestimmung des Messinstruments und liefert das individuelle Isotopenverhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ des Patienten (Anleitung zum ^{13}C -Atemtest). Anschließend wird dem Patienten ein Testgetränk mit einer definierten Menge Harnstoff, meist 75 oder 100mg Harnstoff gelöst in 200ml 0,1 M Zitronensäure, verabreicht. Nach 30 Minuten erfolgt eine weitere Atemprobengewinnung (LEODOLTER, DOMINGUEZ-MUNOZ, VON ARMIN, KAHL 1999). Die Analyse der Proben erfolgt mittels eines Massenspektrometers bzw. eines Infrarotspektrometers. Das Testverfahren ist einfach durchzuführen und bietet bei einem hohen apparativen Messaufwand eine optimale diagnostische Wertigkeit. Zur Verzögerung der Magenentleerung wird neben Zitronensäure auch Orangensaft eingesetzt, wobei eine geringere Sensitivität für Orangensaft beschrieben wurde (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000). Die Sensitivität erreicht trotzdem eine hohe diagnostische Wertigkeit (LABENZ, BARTSCH, PEITZ 1996). In der Pädiatrie ist auch Apfelsaft als Testgetränk einsetzbar, bei Erwachsenen kann Apfelsaft wegen der Beeinflussung der diagnostischen Genauigkeit nicht empfohlen werden (KINDERMANN 2000).

Studienergebnisse von Lin et al. zeigten eine Sensitivität von 96% und eine Spezifität von 100%, Labenz et al. fanden eine Sensitivität von 92,5% und eine Spezifität von 97,3% (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

In einer japanischen Studie mit 220 japanischen Kindern erreichte der ^{13}C -Harnstoff-Atemtest eine Sensitivität von 97,8% und eine Spezifität von 98,5% (KATO ET AL. 2002). Der ^{13}C -Harnstoff-Atemtest wird überwiegend zur Überprüfung des Therapieerfolges 4 Wochen nach einer Eradikationstherapie angewendet (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997; NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

Urease-hemmende Medikamente beeinflussen den Test und können dosisabhängig zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Zu dieser Medikamentengruppe gehören Protonenpumpeninhibitoren (PPI), Wismuth-Präparate und Antibiotika. Bei Einnahme niedrig dosierter PPI (20-40mg Omeprazol/Tag) über einen Zeitraum von weniger als 5 Tagen besteht nur ein geringer Einfluss auf das Testergebnis. Werden die PPI in höheren Dosen (80mg/Tag) verabreicht, werden 50% der Atemtests bereits nach 5 Tagen falsch-negativ. Der ¹³C-Atemtest sollte daher erst nach einer Zeit von 4 Wochen nach einer Eradikationstherapie durchgeführt werden (CASPARY ET AL. 1996; KOLETZKO, RHEINHARDT 1997; NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000). Auf eine endoskopische Kontrolle kann bei Vorliegen einer diagnostisch gesicherten Gastritis oder eines Ulkus duodeni bei negativem Atemtest verzichtet werden. Zahlreiche Studien zeigten, dass eine Gastritis oder ein Ulkus duodeni bei Fehlen ulzerogener Noxen wie z.B. nicht-steroidaler Antirheumatika ausheilen. Eine endoskopische Kontrolle mit mehreren Biopsien sollte bei Vorliegen eines blutenden Ulkus oder eines Ulkus ventrikuli erfolgen, um Dysplasien im ehemaligen Ulkusbereich sicher ausschließen zu können. Im Falle einer fehlgeschlagenen Eradikations-therapie ist ebenfalls, wegen der Gefahr einer Resistenzentwicklung, vor einer erneuten Eradikationstherapie die Endoskopie mit Biopsie für eine Kultur mit Resistogramm durchzuführen (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997).

2.5.7 Antikörper Tests

Grundlage serologischer Nachweisverfahren ist die Fähigkeit von *H. pylori*, durch Antigene eine lokale und insbesondere eine systemische Immunantwort auszulösen. Die einzelnen Testverfahren enthalten spezifische Antigene, die mit IgG-Antikörpern im Serum reagieren.

Die meisten Verfahren detektieren IgG-Antikörper, einige Patienten bilden aber nur Antikörper der Klasse IgA (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000). Nach erfolgreicher Keimsanierung zeigte sich ein Absinken des IgG-Spiegels in 6-12 Monaten von bis zu 90%. Ein Abfall von mindestens 50% ist als Eradikationserfolg anzusehen (STADELMANN 1995). Unabhängig von der Testmethode ist die Wahl des Antigens für die Sensitivität und Spezifität von entscheidender Bedeutung. Nicht alle *H. pylori*-Stämme besitzen bei unterschiedlichen Populationen die gleichen Oberflächenantigene. In einem belgischen Labor zeigte ein und derselbe Test bei einheimischen Patienten eine Spezifität von 97%, während bei Einwanderern aus mediterranen Ländern nur eine Spezifität von 70% eruiert wurde. Ein weiteres Problem ist, dass viele Testverfahren noch nicht in pädiatrischen Populationen validiert sind und der kindliche Antikörperspiegel insgesamt niedriger ausfällt. In einer englischen Studie wären bei Verwendung der gültigen Grenzwerte für Erwachsene nur 10 von 21 infizierten Kindern mit dem serologischen Test als positiv erkannt worden. Ein Latexagglutinationstest zeigte in einer anderen Studie bei Erwachsenen eine Sensitivität von 92%, bei Kindern imponierten lediglich 36% (DAY, MITCHELL, BOHANE 2004).

Zusammenfassend darf ein Testverfahren nur dann eingesetzt werden, wenn zuvor eine Validierung in der Zielpopulation erfolgt ist (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997; DAY, MITCHELL, BOHANE 2004).

Die serologischen Nachweisverfahren zeichnen sich durch die schnelle Verfügbarkeit der Ergebnisse bei vergleichsweise niedrigen Kosten und vergleichbarer Genauigkeit zur Erstdiagnose der *H. pylori*-Infektion aus (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

Die serologischen Nachweisverfahren für eine H. pylori-Infektion unterscheiden sich in ihrer Treffsicherheit vom Ausgangsmedium, der Nachweis im Serum erweist sich als zuverlässig. Weniger zuverlässig erweisen sich Nachweisverfahren mit Kapillarblut als Schnelltest und mit Speichel (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997). Ziel der Entwicklung serologischer Schnelltests war eine einfache und schnelle Durchführbarkeit der Diagnostik insbesondere für die Praxis des niedergelassenen Arztes. Zur Durchführung wird dem Patienten eine geringe Menge Kapillarblut entnommen und in ein Testsystem überführt. Die positive Reaktion wird mittels einer optischen Reaktion angezeigt. Die meisten Studien attestieren zwar eine ausreichende Sensitivität, aber eine unzureichende Spezifität. Insbesondere bei Patienten über 45 Jahren zeigte sich ein erhebliches Absinken der Spezifität (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000). Bei einem europäischen Ringversuch mit 8 kommerziell erhältlichen Testkits für IgG-Antikörper im Serum gegen H. pylori, der in 17 Labors durchgeführt wurde, betrug die mittlere Sensitivität und Spezifität noch akzeptable 80-90%. Die Standardabweichungen zeigten jedoch, dass der gleiche Test bei demselben Patienten in den verschiedenen Labors zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen führte (FELDMANN, DEEKS, EVANS ET AL. 1995). Die im Handel erhältlichen Testverfahren unterscheiden sich lediglich in der Art des Trägermaterials für die Antigenbeschichtung, es erfolgt eine Unterteilung der Antikörper-Tests in verschiedene Gruppen. Vergleichende Untersuchungen mit Kultur und Histologie attestieren den ELISAs eine vergleichbare Treffsicherheit im Nachweis des Keims (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.7.1 ELISA

Allen serologischen Verfahren ist gemeinsam, dass keine Unterscheidung zwischen akuter und ausgeheilter Infektion erfolgen kann (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997). Antikörper-Tests nach dem ELISA-Verfahren besitzen den Vorteil, dass auch quantitative Aussagen über die Titerhöhe möglich sind, dadurch können prinzipiell auch Aussagen zur Therapiekontrolle erfolgen. Die europäische H. pylori Study Group empfiehlt in ihren Konsensus-Richtlinien die Antikörper-Tests nach dem ELISA-Verfahren zusammen mit dem ^{13}C -Atemtest zur Erstdiagnose der H. pylori-Infektion bei Patienten <45 Jahre mit dyspeptischen Beschwerden und ohne Vorhandensein weiterer sogenannter Alarmsymptome. Bei Patienten mit Alarmsymptomen oder Patienten > 45 Jahre ist eine Gastroduodenoskopie als Eingangsuntersuchung primär indiziert, um Neoplasien sicher ausschliessen zu können (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.7.2 Immunhämagglutinationstest

Immunhämagglutinationstests verfügen über an Schafserythrozyten gekoppelte Antigene. Patientenserum wird in Mikrotiterplatten überführt, bei Vorhandensein von Antikörpern gegen H. pylori findet eine titerabhängige Agglutinationsreaktion am Plattenboden statt. Bei Fehlen von Antikörpern gegen H. pylori bildet sich ein Erythrozyten-Ring aus. Die Auswertung erfolgt visuell. Im Vergleich zeigte der Immunhämagglutinationstest schlechtere Ergebnisse in Sensitivität und Spezifität, weshalb sich das Verfahren bisher klinisch nicht etablieren konnte (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.7.3 Immunoblot

Neben den ELISAs haben sich in der H. pylori-Routinediagnostik auch Immunoblots durchgesetzt. Die sehr sensitiven Immunoblots werden visuell meist mittels eines Vergleich-Blots ausgewertet und können deshalb im Vergleich zum ELISA im Ergebnis abweichen. Schwach positive Seren, die im ELISA negativ bewertet sind, imponieren im Immunoblot als positiv. Mittels Immunoblots ist es möglich, spezifische Antikörper von H. pylori nachzuweisen und zur Differenzierung des Risikoprofils heranzuziehen (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.7.4 Speicheltest

Helicobacter pylori-Antikörper sind unter anderem im Speichel von Infizierten nachweisbar. Es sind IgG- als auch IgA-Antikörper nachweisbar, der IgG-Antikörperspiegel ist im Vergleich zum Serumtiter wesentlich niedriger. Dies ist für die Grenzwertbestimmung der Spezifität und Sensitivität von entscheidender Bedeutung, da die Grenzwerte im Vergleich zu den Serumwerten erheblich niedriger anzusetzen sind. Ein Herabsetzen der Grenzwerte bewirkt wiederum eine Abnahme der Trennschärfe zwischen H. pylori-Positiven und H. pylori-Negativen. Trotz der sehr einfachen Materialgewinnung und einfachen Durchführbarkeit der verfügbaren Speicheltests ist dieses Testverfahren für die klinische Praxis aufgrund der angegebenen Sensitivität zwischen 65 und 84% und einer Spezifität zwischen 55 und 70% noch unbrauchbar (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.5.8 Enzym-Immunoassay (EIA) Premium Platinum HpSA

Die Identifikation von bakteriellen Antigen im Stuhl mittels Enzym-Immunoassay (EIA) hat sich vor wenigen Jahren als valide Methode in der H. pylori Diagnostik klinisch etabliert (AGHA-AMIRI ET AL. 2001; LEODOLTER, ET AL. 2002). Für den Stuhl-Antigentest wird nur eine geringe Menge Stuhl benötigt, die im Labor aufbereitet und dann mittels Enzym-Immunoassay (EIA) analysiert wird. Die meisten klinischen Erfahrungen liegen mit dem Premium Platinum HpSA vor, dem ersten verfügbaren Enzym-Immunoassay für die Diagnostik von H. pylori Antigenen in Stuhlproben (GISBERT, PAJARES 2001). Der Test benutzt polyklonale Antikörper und zeigte gute Ergebnisse in der Diagnostik der Helicobacter pylori-Infektion und der Evaluierung des Eradikationserfolges (KONSTANTOPOULOS ET AL. 2001; LEODOLTER ET AL. 2001; ZAMBON ET AL. 2004).

In einer italienischen Studie mit 268 erwachsenen Patienten, deren H. pylori Status anhand der Ergebnisse des ¹³C-Atemtests, Ureaseschnelltests und der Histologie eruiert wurde, ist der HpSA vor und nach Eradikationstherapie evaluiert worden. Vor Eradikationstherapie (T0) zeigte der HpSA eine Sensitivität von 96%, eine Spezifität von 91%, einen positiven prädiktiven Wert von 95%, einen negativen prädiktiven Wert von 93% und eine diagnostische Genauigkeit von 94%. Der HpSA zeigte 30 Tage nach Eradikationstherapie (T30) signifikant schlechtere Ergebnisse. Die Sensitivität betrug zum Zeitpunkt T30 92%, die Spezifität 82%, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert betrugen jeweils 49% und 98%. Die diagnostische Genauigkeit betrug lediglich 83%, signifikant niedriger als im beobachteten Zeitraum.

T0 ($P < 0,001$). Drei Monate (T90) nach Eradikationstherapieende wurden der ^{13}C -Atemtest und der HpSA erneut ausgeführt. Die Sensitivität, Spezifität, der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert des HpSA betrugen 96%, 97%, 85% und 99%. Es fand sich keine statistisch signifikante Differenz in der diagnostischen Genauigkeit des HpSA der „baseline“-Messung und zum Zeitpunkt T90 ($P = 0,253$). Die vorliegenden Daten deuten auf das Auftreten einer niedrigeren diagnostischen Genauigkeit bei Verwendung kurzer Zeit nach Eradikationstherapieende hin. Erst 8-12 Wochen nach Therapieende erreicht der HpSA eine vergleichbare Genauigkeit wie der ^{13}C -Atemtest. Dies deutet darauf hin, dass 3 Monate nach Therapieende der optimale Zeitpunkt einer Therapiekontrolle mit dem HpSA ist (COSTA, MUMOLO, BELLINI 2001). Möglicher Grund für die erheblichen Unterschiede in der diagnostischen Wertigkeit nach einer Eradikationstherapie könnte der vom Hersteller angegebene Grenzwert sein. Nach Anpassung mittels ROC-Analyse konnte eine Genauigkeit von über 90% erzielt werden. Ein weiterer Grund sind die zum Nachweis verwendeten polyklonalen Antikörper, die unter Umständen Chargenschwankungen unterliegen (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

Bei einer deutschen Studie war das Ziel, die diagnostische Genauigkeit des HpSA in der niedergelassenen Praxis vor und nach Eradikationstherapie bei Benutzung des regulären Postwegs ohne Kühlung der Proben zu bestimmen. Es wurden 192 erwachsene Patienten mit dyspeptischen Beschwerden für einen Evaluationsversuch mit unterschiedlichen H. pylori Nachweisverfahren vor und nach Eradikationstherapie bei einem niedergelassenen Gastroenterologen in die Studie eingeschlossen. Ein Patient war als H. pylori-positiv definiert, wenn Kultur und/oder Urease-Schnelltest und Histologie positive Ergebnisse zeigten. Stuhlprobenröhrchen wurden an 250 Patienten nach erfolgter oberer gastrointestinaler Endoskopie ausgegeben.

Die Probenröhrchen befanden sich zusammen mit Briefmarken in Umschlägen. Die Patienten wurden angewiesen, eine Stuhlprobe in das Röhrchen zu überführen und die Probe über den regulären Postweg an ein Zentrallabor zu senden. Die Zeit vom Einfüllen der Stuhlprobe bis zum Eintreffen in das Zentrallabor wurde festgehalten. Nach Eintreffen wurden die Proben eingefroren und anschließend mittels Premier Platinum HpSA analysiert. 68% der Patienten sandten die Stuhlprobe an das Labor. Es zeigten sich hinsichtlich der Transportdauer der Proben signifikante Unterschiede. Der HpSA zeigte bei Proben, die einen Tag ungekühlt transportiert wurden, folgende Werte: Sensitivität 84,6%, Spezifität 97,3%, positiver prädiktiver Wert 91,7%, negativer prädiktiver Wert 94,7% (n=50). Bei der Bestimmung der Proben, die 2-3 Tage ungekühlt transportiert wurden, sind folgende Werte ermittelt worden: Sensitivität 69,2%, Spezifität 93,3%, positiver prädiktiver Wert 81,8%, negativ prädiktiver Wert 87,5% (n=43). Ungefrorene Stuhlproben sollten innerhalb eines Tages in das Labor gesendet werden, sonst kommt es zu einer beachtlichen Reduktion der Sensitivität. Die Akzeptanz des Stuhltests durch die Patienten war bemerkenswert niedrig (LEODOLTER, ZIEGLER, LEHN, MALFERTHEINER 2001).

2.5.9 Enzym-Immunoassay (EIA) FemtoLab H. pylori Cnx

Ein weiterer H. pylori Stuhl-Antigentest der FemtoLab H. pylori Cnx, ein auf monoklonalen Antikörpern basierendes Enzym-Immunoassay (EIA), ist in letzter Zeit in mehreren Studien in der Diagnostik der H. pylori-Infektion und der Evaluierung des Eradikationserfolges überprüft worden. In einer prospektiven europäischen multizentrischen Studie erfolgte ein Vergleich der Genauigkeit des FemtoLab H. pylori Cnx mit einem auf polyklonalen Antikörpern basierendem Enzym-Immunoassay (Premier Platinum HpSA), einem ^{13}C -Harnstoff-Atemtest (Pylobactell) und einem serologischen H. pylori Antikörper ELISA (Euro-Immun). Mittels einer oberen gastrointestinalen Endoskopie wurden Biopsien aus dem Antrum und Korpus für Histologie und Urease-Schnelltest und Kultur entnommen. Die Patienten wurden als H. pylori positiv definiert, wenn Histologie und Urease-Schnelltest ein positives Ergebnis zeigten oder die kulturelle Anzucht gelungen war. Insgesamt konnten 265 Patienten evaluiert werden. Der FemtoLab H. pylori Cnx imponierte mit einer Spezifität von 97,8% und einer Sensitivität von 95,5% und übertraf damit das Ergebnis des Premier Platinum HpSA, der eine Spezifität von 96,3% und eine Sensitivität von 80,2% zeigte. Die Spezifität und Sensitivität des ^{13}C -Harnstoff-Atemtests betrugen 95,7% bzw. 96,4%. Die serologische Bestimmung mittels ELISA zeigte eine Spezifität von 70,5% und eine Sensitivität von 92,1%. Die Ergebnisse zeigen, dass der FemtoLab H. pylori Cnx mit dem ^{13}C -Harnstoff-Atemtest genau übereinstimmt. Im Vergleich zum Premier Platinum HpSA zeigt sich der FemtoLab H. pylori Cnx in der Sensitivität überlegen.

Bei der serologischen Bestimmung mittels ELISA zeigt sich bedingt durch die niedrige Spezifität ein Mangel in der Genauigkeit und keine Gleichwertigkeit mit Stuhltests in der nicht-invasiven Diagnostik der H. pylori-Infektion (MALFERTHEINER, VAIRA, BAZZOLI, ET AL. 2001). In einer weiteren deutschen Studie wurde der FemtoLab H. pylori Cnx anhand von 199 Stuhlproben evaluiert. Der H. pylori-Infektionsstatus wurde mittels der bestehenden Goldstandards, der Histologie und/oder des ^{13}C -Harnstoff Atemtests ermittelt. Das Enzym-Immunoassay zeigte dabei eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität von 94%. Zur Eradikationskontrolle wurden Stuhlproben von 97 Patienten 4-6 Wochen nach Eradikationstherapie untersucht, als Referenz diente der ^{13}C -Harnstoff-Atemtest. Der FemtoLab H. pylori Cnx zeigte dabei eine Sensitivität von 94% und eine Spezifität von 99%.

Die erreichten Werte für Spezifität und Sensitivität sind gleichwertig mit dem Goldstandard der invasiven Diagnostik (Histologie) sowie der nicht-invasiven Diagnostik (^{13}C -Harnstoff-Atemtest). Das EIA ist gut zur Eradikationskontrolle nach erfolgter Therapie geeignet. Der FemtoLab H. pylori Cnx ist zur Primärdiagnostik, Eradikationskontrolle und für die Detektion einer Reinfektion einsetzbar (FINK, HAINDL, BENESCH, ET AL. 2000).

Beeindruckende Ergebnisse lieferte auch eine in München, Amsterdam und Paris durchgeführte Studie des FemtoLab H. pylori Cnx mit 302 Stuhlproben von symptomatischen Kindern (148 Mädchen, 154 Jungen; Alter von 0,5-18,7 Jahren). Die Stuhlproben wurden bis zur Analyse bei -20°C eingefroren. An der Studie nahmen ausschließlich Kinder teil, deren definierter H. pylori- Infektionsstatus durch Biopsie gesichert wurde.

Die Kinder wurden als *H. pylori*-positiv angesehen, wenn Kultur und/oder wenigstens zwei andere Methoden (Histologie, Urease-Schnelltest, ^{13}C -Harnstoff-Atemtest) positiv waren. Negativ war der Status der *H. pylori* Infektion bei übereinstimmend negativen Ergebnissen aller Testverfahren. Keines der Kinder hat innerhalb von 4 Wochen vor Testdurchführung antimikrobielle oder säuresupprimierende Medikamente erhalten. Das Enzym-Immunoassay wurde an 3 teilnehmenden Zentren (München n=173, Amsterdam n=97, Paris n=32 Kinder) durchgeführt. Die Ergebnisse wurden bei 450/630nm spektrophotometrisch ermittelt. Eine Optische Dichte (OD) $<0,150$ war als negativ und eine OD $>0,150$ als positiv definiert. Nur 4 Kinder waren nicht richtig klassifiziert (2 falsch positive und 2 falsch negative). Sensitivität war 98%, Spezifität 99%, positiver prädiktiver Wert 98%, negativer prädiktiver Wert 99% und die diagnostische Genauigkeit betrug 98%. Der FemtoLab *H. pylori* Cnx ist einfach anzuwenden und zeigt eine gute Trennung zwischen positiven und negativen Testresultaten. Bei Kindern mit symptomatischen Beschwerden ist der Test gut zur Evaluation des *H. pylori* Status einsetzbar. Die diagnostische Genauigkeit ist unabhängig vom ausführenden Laboratorium (KOLETZKO, KONSTANTOPOULOS, FEYDT-SCHMIDT 2003).

Eine Münchner Arbeitsgruppe evaluierte einen monoklonalen Stuhl-Antigentest vor und nach Eradikationsbehandlung von *H. pylori*-infizierten Erwachsenen. Die Ergebnisse wurden mit dem ^{13}C -Atemtest, Kultur und Histologie verglichen. An dieser Studie nahmen 50 Patienten (23 Frauen und 27 Männer im Alter von 26 bis 76 Jahren) teil. Die Patienten wurden wegen variierenden gastrointestinalen Symptomen, die an eine organische Erkrankung denken ließen, an eine private gastroenterologische Praxis verwiesen. Nur Patienten, die sich einer oberen gastrointestinalen Endoskopie aufgrund epigastrischer Schmerzen und einem positiven Urease-Schnelltest unterzogen, wurden in die Studie aufgenommen.

Patienten, die Antibiotika oder säurehemmende Medikamente innerhalb von vier Wochen vor Untersuchungsbeginn einnahmen oder an chronischen Magen- Darmerkrankungen litten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Jedem Patienten wurden während der Endoskopie sechs Magenbiopsien entnommen. Eine Antrumbiopsie wurde für den Urease-Schnelltest benötigt. Zwei Gewebeproben aus dem Antrum und zwei aus dem Korpus wurden formalinfixiert, nach modifiziertem Giemsa-Verfahren gefärbt und von einem Pathologen auf das Vorhandensein von *H. pylori* überprüft. Eine andere biopsierte Gewebeprobe aus dem Antrum wurde direkt in ein Transportmedium überführt und innerhalb von 7 Stunden zur kulturellen Anzucht an ein mikrobiologisches Labor gesandt. Für die Definition des *H. pylori*-Infektionsstatus wurde das Ergebnis des Urease-Schnelltests, der histologischen Untersuchung und der Kultur verwandt. Ein Patient war als positiv berücksichtigt, wenn mindestens zwei von drei Testverfahren positive Ergebnisse zeigten. Patienten mit einem positiven Urease-Schnelltest-Ergebnis innerhalb von 20 Minuten waren für die Standard Italian triple Therapie (2 x 400mg Metronidazol, 2 x 500mg Clarithromycin und 2 x 20 mg Esomeprazol täglich für 7 Tage) geeignet. Der ¹³C-Atemtest wurde 6 Wochen nach Ende der Eradikationstherapie wiederholt. Die Patienten wurden aufgefordert, jeweils eine Stuhlprobe auf dem Postweg an das mikrobiologische Labor zu senden, bevor sie die Eradikationstherapie begannen und eine weitere zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung. Alle Proben wurden bis zur Testdurchführung bei -20°C eingefroren. Das Ergebnis des positiven Urease-Schnelltests war zusammen mit der Histologie bei allen 50 Patienten übereinstimmend. Die kulturelle Anzucht war in nur 35 Fällen erfolgreich gewesen.

Diese Diskrepanz ist wahrscheinlich auf die Tatsache zurückzuführen, dass *H. pylori* nicht gleichmäßig im Magen verteilt ist (TREBESIUS, PANTHEL, STROBEL 2000). Tatsächlich hatte der Pathologe vier Proben der Magenbiopsie erhalten. Der Mikrobiologe hatte nur eine Probe aus dem Antrum erhalten, dies führt zur Zunahme der Sensitivität der Histologie. Der ^{13}C -Atemtest war in 48 von 50 infizierten Patienten positiv gewesen, das verlieh ihm eine Sensitivität von 96,2%. In 47 Fällen zeigte der Stuhl-Antigentest ein positives Resultat, das bedeutet eine Sensitivität von 94,3%. Sechs Wochen nach Ende der Eradikationstherapie zeigen ^{13}C -Atemtest und Enzym-Immunoassay übereinstimmend bei 40 Patienten (80%) ein negatives Testergebnis und bei 10 Patienten (20%) übereinstimmend ein positives Testergebnis. Bei vier der nicht erfolgreich Behandelten fand sich ein gegen Clarithromycin und Metronidazol resistenter *H. pylori* Stamm, ein Patient war mit einem nur gegen Metronidazol resistenten Keim infiziert. In dieser Studie zeigte der Stuhltest vor Eradikationstherapie eine vergleichbare und nach Eradikationstherapie die gleiche Sensitivität wie der ^{13}C -Atemtest (WEINGART, RÜSSMANN, KOLETZKO 2004).

Eine italienische Studie der Universität in Padova mit dem Ziel, zwei Enzym-Immunoassays (HpSA, FemtoLab) und eine PCR für UreaseA und CagA im Fäzes mit dem ^{13}C -Atemtest zu vergleichen, wurde mit 470 ambulanten Patienten (243 Männer und 236 Frauen im Alter von 20-78 Jahren) durchgeführt. Der *Helicobacter pylori*-Status wurde in Gruppe 1 (n=187) mittels ^{13}C -Atemtest, den beiden Enzym-Immunoassays, der UreaseA und CagA im Fäzes festgestellt. In Gruppe 2 (n=283) wurden mit dem ^{13}C -Atemtest Messungen nach 10, 20 und 30 Minuten durchgeführt. Ausschlusskriterien waren: (1) vorherige Behandlung mit einem Protonenpumpeninhibitor (PPI) oder Wismuthpräparaten oder Antibiotika innerhalb der letzten 4 Wochen vor Testbeginn; (2) eine Eradikationstherapie innerhalb der letzten 8 Wochen.

Stuhlproben lagen bei 187 von 470 Patienten vor (Gruppe 1). Die Stuhlproben wurden unverzüglich bei -20°C eingefroren. 283 von 470 Patienten (Gruppe 2) unterzogen sich dem ^{13}C -Atemtest nach oraler Applikation von 75mg ^{13}C -Harnstoff. Die Probenentnahme erfolgte zu den Zeitpunkten 10, 20 und 30 Minuten nach Harnstoffgabe. In Gruppe 1 wurde die Anwesenheit von *H. pylori*-Antigenen in den Stuhlproben mittels zweier unterschiedlicher im Handel erhältlicher Enzym-Immunoassays (HpSA, FemtoLab) überprüft. Aus Gruppe 1 hatten 85 von 187 Patienten einen positiven ^{13}C -Atemtest zu verzeichnen, die verbleibenden 129 Patienten waren *H. pylori*-negativ. Die Sensitivität und Spezifität des HpSA betrugen 67% und 99%, der FemtoLab *H. pylori* zeigte eine Sensitivität von 90% und eine Spezifität von 96%. UreaseA war positiv in Stuhlproben von 17 von 48 *H. pylori*-Positiven (Sensitivität 35,4%) und negativ in 98 von 100 *H. pylori*-Negativen (Spezifität 98,0%). Mittels Sequenzanalysen wurde in 16 von 48 Stuhlproben von *H. pylori*-Positiven CagA nachgewiesen, in 5 von 100 Fällen wurde ein falsch positives Ergebnis ermittelt. 13 von 21 (62%) der CagA-positiven Patienten waren UreaseA-negativ. Beim ^{13}C -Atemtest fanden sich bei den Atemproben nach 10, 20 und 30 min keine statistisch signifikanten Unterschiede. Von den beiden Enzym-Immunoassays zeigte der FemtoLab *H. pylori* eine höhere Sensitivität bei vergleichbarer Spezifität (ZAMBON, BASSO, NAVAGLIA, MAZZA 2004).

2.5.10 Fadentest

Ein sehr originelles Testverfahren ist der sogenannte Fadentest. Der Patient schluckt einen hochabsorbierenden Nylonfaden, der am Ende eine Kapsel besitzt; das andere Ende wird im Mundbereich fixiert. Der Faden reicht bis ins Duodenum, die Liegezeit beträgt eine Stunde. Danach wird mit dem Fadenende eine Agar-Platte beimpft. Mit diesem sehr einfachen Verfahren ist eine Keimanzüchtung auch ohne Endoskopie möglich. Das Ergebnis der kulturellen Anzucht verglichen mit der Anzucht von *H. pylori* aus Biopsie zeigt eine Übereinstimmung von etwa 90%. Die Keimgewinnung für ein Resistogramm und der Nachweis von *H. pylori* mittels PCR sind mit diesem Verfahren möglich (NILIUS, LEODOLTER, MALFERTHEINER 2000).

2.6 *Helicobacter pylori* assoziierte Erkrankungen

2.6.1 Immunantwort und entzündliche Veränderungen

Insgesamt sind etwa 80-90% der Gastritiden durch *H. pylori* induziert. Aufgrund chemischer Reize, zum Beispiel durch Gallensäurereflux oder Einnahme von Acetylsalicylsäure (ASS) bzw. anderer nichtsteroidaler Antirheumatika (NSAR), sind ca. 10% aller Gastritiden bedingt. Weitere 3-5% sind als Autoimmungastritis einzuordnen (CASPARY ET AL. 1996). Die Infektion mit *H. pylori* führt praktisch bei allen Infizierten zu einem Entzündungsprozess in der Magenschleimhaut. Der Keim wird kaum in morphologisch unveränderter Magenschleimhaut gefunden. Entscheidende Bedeutung kommt den Epithelzellen durch die Freisetzung von Interleukin (IL)-8 zu.

Durch die starke chemotaktische und aktivierende Wirkung des Interleukin (II)-8 auf neutrophile Granulozyten und anderen Zytokinen wie Interleukin (II)-1 und Tumornekrosefaktor (TNF) α wird die Entzündungsreaktion verstärkt. Das Stadium der Entzündungsreaktion der Magenschleimhaut wird in die akute und chronische H. pylori-Infektion unterschieden. Demnach ist die akute H. pylori-Infektion der Magenschleimhaut durch starke Infiltration mit neutrophilen Granulozyten gekennzeichnet. Die chronische H. pylori-Infektion zeichnet sich durch das von Plasmazellen, Makrophagen und T-Lymphozyten gekennzeichnete Infiltrat aus. Die Dichte der H. pylori-Kolonisierung korreliert mit dem Grad und der Aktivität der Gastritis. Bei Kindern finden sich im Vergleich zu Erwachsenen dichtere Zellinfiltrate (KOLETZKO, REINHARDT 1997). Bei langandauernder H. pylori-Infektion kommt es zu partiellem Ersatz des Oberflächenepithels durch Regeneratepithel, einer Schleimdepletion sowie zur Ausbildung von Lymphfollikeln und des weiteren zu intestinalen Metaplasien. Eine Kolonisierung von H. pylori kann nur in Epithelien vom gastrischen Typ erfolgen. Dementsprechend ist eine Kolonisierung des Keims im Duodenum nur in Bereichen mit gastraler Metaplasie möglich (SUERBAUM 1994). Die Infektion mit H. pylori führt in der Magenschleimhaut lokal zu einer Bildung von IgA und systemisch zu einer spezifischen Produktion von IgG- und IgA-Antikörpern auf die unterschiedlichen Bakterienantigene. Die Bakterienantigene verschiedener Stämme besitzen unterschiedliche Immunität. Die Lipopolysaccharide auf der Bakterienoberfläche zeigen nur eine geringe immunologische Aktivität. Deshalb kommt es trotz der humoralen und zellulären Immunantwort auf die H. pylori-Infektion nicht zu einer Eliminierung des Keims. Eine erworbene Infektion besteht häufig lebenslang fort. Bei Säuglingen und Kleinkindern kommt es häufiger als bei Erwachsenen zum Auftreten von spontanen Eradikationen.

Wahrscheinlich kommt es im Laufe einer langjährigen Gastritis durch die Schleimhautatrophie mit Hypo- oder Achlorhydrie zu ungünstigen Lebensbedingungen für *H. pylori*, so dass es in einigen Fällen zu einer spontanen Eradikation kommt (KOLETZKO, REINHARDT 1997).

2.6.2 Ulcus ventriculi und Ulcus duodeni

Patienten mit Ulcus duodeni sind zu über 95% mit *H. pylori* infiziert. Ausgangspunkt der Ulzera stellen die mit *H. pylori* kolonisierten Regionen gastrischer Metaplasie dar. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Eradikation von *H. pylori* die Rezidivrate des Ulcus duodeni von 70% ohne Therapie auf ca. 2% vermindert. In vielen Fällen handelt es sich bei den Rezidiven um Reinfektionen oder späte Rekrudeszenzen (SUERBAUM 1994). Bei *H. pylori*-positiven Patienten mit einem Duodenalulkus fand sich im Vergleich zu *H. pylori*-negativen Ulkuspatienten eine 3-fach höhere basale Säuresekretion und eine 6-fach gesteigerte stimulierbare Säuresekretion. Bei *H. pylori*-positiven Patienten ohne Ulkus liegt die stimulierbare Säuresekretion doppelt bis 3-fach über der gesunder, *H. pylori*-negativer Personen. Als Ursache der gesteigerten Gastrin- und Säuresekretion konnte die reduzierte Freisetzung von Somatostatin aus der entzündeten Magenschleimhaut ermittelt werden; Somatostatin besitzt einen inhibitorischen Effekt auf die Partialzellen. Die erhöhte Säuresekretion normalisiert sich ein Jahr nach erfolgter Eradikationstherapie wieder völlig (KOLETZKO, REINHARDT 1997).

Bei 70-80% der Patienten mit Ulcus ventriculi ist eine Infektion mit *H. pylori* nachweisbar. Durch Eradikationstherapie kommt es ebenfalls zur Ausheilung der Ulkuskrankheit. Ist der *H. pylori*-Nachweis bei einem Ulcus ventriculi negativ ausgefallen, so ist eine Genese durch nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR) sehr wahrscheinlich.

Unter NSAR-Therapie kommt es häufiger zum Auftreten von Magenulzera als zu Duodenalulzera (CASPARY ET AL. 1996). In seltenen Fällen kommt es aufgrund eines Zollinger-Ellison-Syndroms zu einem Ulcus ventriculi (SUERBAUM 1994). Beweis der Kausalität von *H. pylori* für die Ulkulentstehung ist die Tatsache, dass eine erfolgreiche Eradikationstherapie Magen- und Duodenalulzera heilt und Rezidive sowie Komplikationen fernhält. Eine *H. pylori*-Infektion erhöht das Risiko an einem Ulkus zu erkranken um das Vierfache. Wenn die Infektion auf das Antrum begrenzt ist, kann das Risiko je nach Ausprägung der Infektion um ein Vielfaches (25-fach) ansteigen (MALFERTHEINER 2000). Ein mit *H. pylori*-infizierter Erwachsener hat ein geschätztes Risiko von etwa 10-15% in 10-20 Jahren einen Ulkus auszubilden (KOLETZKO, REINHARDT 1997).

2.6.3 Gastroösophageale Refluxerkrankung (GORD)

In den letzten Jahren kam es zu einem dramatischen Anstieg der Inzidenz der GORD, der Refluxösophagitis und der Adenokarzinome des distalen Ösophagus in den westlichen Ländern. Hauptsymptom der GORD ist das Sodbrennen, jedoch kann sich die GORD auch mit einer Vielzahl anderer dyspeptischer Beschwerden äußern oder asymptomatisch verlaufen. In einer Prävalenzstudie in Olmsted Country, Minnesota, wurde die GORD als Anwesenheit von Sodbrennen und/oder das Zurückfließen von Säure mindestens einmal pro Woche definiert. Die Prävalenz der GORD in dieser Studie (2200 Einwohner im Alter von 25-74 Jahren) wurde mit 19,8 auf 100 Einwohner angegeben.

Im Jahr 1997 wurde durch Labenz et al. erstmalig die Diskussion entfacht, ob nicht nur die Infektion mit *H. pylori*, sondern auch die Eradikationstherapie zur Ausbildung der gastroösophagealen Refluxerkrankung (GORD) führen kann (JASPERSEN, GERARDS 2000).

In randomisierten kontrollierten Studien war die Rückfallrate mit GORD-Symptomen in der Gruppe der Patienten mit Eradikationstherapie gleich der Gruppe der Placebo-Behandelten GORD Patienten. Die Rückfallrate betrug 83% in beiden Gruppen. Es zeigte sich, dass die Behandlung von *H. pylori* nicht die Effektivität der Protonenpumpeninhibitoren (PPI) beeinflusste. Nach Aussage mehrerer jüngster Studien führt die Eradikation von *H. pylori* nicht zur Neuentwicklung oder Verstärkung einer bestehenden GORD. Die Eradikationstherapie stoppt die Ausbreitung einer atrophischen Gastritis und kann zur Regression der Atrophie führen. (MALFERTHEINER, MÉGRAUD, O'MORAIN 2005)

2.6.4 Funktionelle Dyspepsie

Der Zusammenhang von Oberbauchschmerzen und *H. pylori*-Infektion hat sich bei Erwachsenen sowie bei Kindern als sehr uneinheitlich erwiesen. Durch artifiziell ausgelöste *H. pylori*-Infektionen konnte in Selbstversuchen aufgezeigt werden, dass durch Ingestion oder akzidentiell durch kontaminierte Magensonden ein dyspeptisches Beschwerdebild induziert werden kann. Parsonnet et al. fanden bei Personen mit Serokonversion ein viermal häufigeres Vorkommen von dyspeptischen Beschwerden als bei Personen mit einem konstant *H. pylori*-negativen oder positiven Status. Bisher konnte keine Korrelation von dyspeptischen Beschwerden und der Intensität der Gastritis (Grad sowie Aktivität der *H. pylori*-Gastritis) festgestellt werden (HOTZ, MADISCH, PEITZ 2000).

2.6.5 Magenkarzinom

Obwohl die Prävalenz der H. pylori-Infektion in den westlichen Industrieländern zurückgeht, verursacht die H. pylori-Infektion weltweit weiterhin etwa 500.000 Todesfälle durch Magenkarzinom pro Jahr (LEVI, LUCCHINI, GONZALEZ 2004). Als Folge eines chronischen Entzündungsprozesses kann es zu Schleimhautatrophie, intestinaler Metaplasie und zum Teil auch zu Dysplasien kommen. Eine Atrophie mit Achlorhydrie und schwerer intestinaler Metaplasie sind als präkanzeröse Veränderungen anzusehen (KOLETZKO, REINHARDT 1997). Durch mehrere große prospektive Studien konnte übereinstimmend gezeigt werden, dass H. pylori-infizierte Personen im Vergleich zu nichtinfizierten Personen ein stark erhöhtes Magenkarzinomrisiko haben. In den verschiedenen Studien wurde der relative Risikofaktor zwischen 2,3 und 6 angegeben. Bei 80% der Patienten mit Magenkarzinom imponierte eine H. pylori-Infektion (SUERBAUM 1994). Schätzungen ergeben, dass etwa die Hälfte aller Magenkarzinome der westlichen Welt und 70% aller Magenkarzinome der Entwicklungsländer Folge einer H. pylori-Infektion sind. Allerdings ist festzuhalten, dass weniger als 0,1% der H. pylori-Infizierten ein Magenkarzinom entwickeln wird (KOLETZKO, REINHARDT 1997). Die vorliegenden Daten sprechen für einen signifikanten Einfluss des Infektionszeitpunktes auf das Karzinomrisiko; je früher in der Kindheit die Infektion mit H. pylori erfolgt, desto höher ist das Risiko. Im Tierversuch gelang es Watanabe et al. 1998 erstmals in mongolischen Wüstenmäusen durch Infektion mit H. pylori Magenkarzinome zu induzieren. Damit war erstmalig der Beweis der Kausalität einer H. pylori-Infektion für die Kanzerogenese des Magenkarzinoms erbracht (DRAGOSIS, EBERT 2000).

2.6.6 MALT-Lymphom

In der normalen Magenmukosa befindet sich kein lymphatisches Gewebe (mucosa associated lymphoid tissue oder MALT). Die Mukosa wird durch eine dicke Mukusschicht und eine intakte und relativ undurchdringliche Epithelschicht vor Antigenen geschützt. Durch die chronische H. pylori-Infektion wird eine Ansammlung von lymphatischen Zellen in der Submukosa induziert (MORGNER, NEUBAUER, BAYERDÖRFFNER 2000). Die Entwicklung von Lymphfollikeln ist eine spezifische immunologische Antwort auf eine langandauernde chronische Infektion mit H. pylori, die Voraussetzung für die Entstehung eines MALT-Lymphoms des Magens ist. Beim MALT-Lymphom handelt es sich um ein extranodales non-Hodgkin-Lymphom vom B-Zell-Typ, das etwa 10% aller malignen Lymphome ausmacht. Es sind vorwiegend Erwachsene im mittleren Lebensalter betroffen. Fast immer ist bei Patienten mit MALT-Lymphom auch eine H. pylori-Infektion nachweisbar. Die Helicobacter pylori-Infektion geht der Entwicklung eines MALT-Lymphoms voraus. Mehrere Studien belegen, dass eine erfolgreiche Eradikationstherapie im Frühstadium des sogenannten Low grade-MALT-Lymphoms des Magens in 70-80% der Fälle zu einer vollständigen histologischen Regression des Tumorgewebes führt (KOLETZKO, REINHARDT 1997).

2.6.7 Riesenfaltengastritis

Bei wenigen Patienten kommt es bei Infektion mit H. pylori zum Auftreten einer sehr starken entzündlichen Reaktion in der Magenmukosa mit Ausbildung von lokalen oder generalisierten Riesenfalten im Korpus und Fundus. Die Ursache ist noch weitgehend unbekannt.

In seltenen Fällen kann das Bild eines Morbus Ménétrier entstehen. Eine Eradikation des Keims beseitigt die Riesenfalten und führt zur weitgehenden Normalisierung des histologischen und endoskopischen Befundes. Eine Persistenz der Riesenfalten kann ein Hinweis auf ein Neoplasma sein (STOLTE 2000).

2.6.8 H. pylori-Infektion im Kindesalter

Bei mehr als 50% der H. pylori-infizierten Kinder und Jugendlichen, selten im Erwachsenenalter, findet sich ein sog. Gänsehautmagen. Dabei handelt es sich um eine endoskopisch sichtbare Nodularität der Antrumschleimhaut des Magens aufgrund einer Bildung und Hyperplasie von Lymphfollikeln. Bei Kindern manifestieren sich Ulzera meist erst ab dem Schulkindalter und sind hauptsächlich mit einer H. pylori-Infektion assoziiert (CASPARY ET AL. 1996).

2.6.9 ESPGHAN-KONSENSUS [DRUMM, KOLETZKO, ODERDA 2000]

- H. pylori verursacht eine chronische Gastritis im Kindesalter.
- H. pylori ist assoziiert mit Ulcus ventriculi und Ulcus duodeni.
- Eradikation von H. pylori führt zur Ausheilung einer Gastritis.
- Eradikation führt zur Langzeitheilung des Ulcus duodeni.
- Im Kindesalter besteht keine spezifische Symptomatik, die bei Vorliegen einer H. pylori-Infektion typisch ist.
- Nachweisverfahren der H. pylori-Infektion sollten nur dann erfolgen, wenn die Symptome eine Eradikationstherapie rechtfertigen.
- Die Gastroduodenoskopie ist die empfohlene Untersuchung bei Kindern mit dyspeptischen Beschwerden.
- Serologische Verfahren sind im Kindesalter nicht geeignet.
- Der C¹³-Atemtest ist eine verlässliche diagnostische Methode.

2.7 Therapie der *H. pylori*-Infektion

2.7.1 Unkomplizierter Ulcus

Bei guter Compliance der Patienten kann durch eine Eradikationstherapie heute nahezu jeder Patient von einer *H. pylori*-Infektion geheilt werden. Idealerweise sollte die Therapie hocheffizient (> 90% Eradikation), einfach für die Patienten und nebenwirkungsarm sein. Die Behandlung sollte 10 Tage nicht überschreiten und stabile *H. pylori*-Sanierungsraten aufweisen. Bei der Resistenzsituation des Keims sollten weder primäre noch sekundäre Resistenzen Einfluss auf die therapeutische Effizienz nehmen. Nicht zuletzt sollten die Behandlungskosten „akzeptabel“ sein (CASPARY ET AL. 1996).

2.7.1.1 Modifizierte Tripel-Therapie

(„Italienische“ Tripel-Therapie) 7 Tage

Protonenpumpenhemmer (2x Standarddosis/Tag)

Clarithromycin (2x 250mg/Tag)

Metronidazol (2x 400mg/Tag)

Nebenwirkungen: ca. 15%, Therapieabbrüche < 5%
(CASPARY ET AL. 1996).

2.7.1.2 Modifizierte Tripel-Therapie

(„Französische“ Tripel-Therapie) 7 Tage

Protonenpumpenhemmer (2x Standarddosis/Tag)

Clarithromycin (2x 500mg/Tag)

Amoxicillin (2x 1000mg/Tag) [oder Metronidazol (2x 500mg)]

Nebenwirkungen: ca. 30%, Therapieabbrüche < 5% (CASPARY ET AL. 1996) [European Helicobacter Pylori Study Group 2000].

2.7.1.3 Reserveschema: Quadrupel-Therapie

Protonenpumpenhemmer (2x Standarddosis/Tag)	Tag 1-10
Tetracyclin (4x 500mg/Tag)	Tag 4-10
Wismuthsalz (4x täglich) [4x120mg]	Tag 4-10
Metronidazol (3x 400mg/Tag) [3x500mg]	Tag 4-10

Nebenwirkungen: ca. 80%, Therapieabbrüche 5-10%
(CASPARY ET AL. 1996) [European Helicobacter Pylori Study Group 2000].

Eine antisekretorische Nachbehandlung nach einer H. pylori-Eradikationstherapie ist bei persistierenden Beschwerden oder der Einnahme nicht-steroidaler Antirheumatika erforderlich (CASPARY ET AL. 1996). Bei einer Protonenpumpenhemmer-Monotherapie kommt es bei H. pylori-positiven Patienten zu einem signifikant höheren intragastrischen pH-Wert als bei H. pylori-negativen Personen. Dazu gibt es zwei Haupttheorien: Das von H. pylori produzierte Ammoniak neutralisiert die Magensäure ebenfalls und verstärkt offensichtlich den Effekt der Säuresuppression. Die andere Theorie besagt, dass es durch die Verminderung der Säureproduktion zur Entwicklung einer Korpus-Gastritis während der Behandlung mit einem Protonenpumpenhemmer kommt (MARTINEK ET AL. 2000).

2.7.1.4 Standarddosen der Protonenpumpenhemmer:

20mg Omeprazol

20mg Esomeprazol

30mg Lansoprazol

40mg Pantoprazol

Die Antibiotika dieser Therapieprotokolle wurden im Rahmen von Studien modifiziert, es ist nicht vertretbar, empfohlene Antibiotika durch nicht evaluierte Antibiotika zu ersetzen. Bei den Protonenpumpenhemmern (PPI) liegen für das Omeprazol die meisten Daten vor. Für andere PPI ist die Datenlage weniger umfangreich. Omeprazol (2x 20mg) kann durch Lansoprazol (2x 30mg) oder Pantoprazol (2x 40mg) ersetzt werden, es kommt dabei nicht zu einer Reduktion der therapeutischen Effizienz (CASPARY ET AL. 1996). Eine Metaanalyse vorliegender Parallelgruppenvergleiche zeigte, dass Behandlungsprotokolle mit einem Protonenpumpeninhibitor bei 78,6% im Vergleich zu 76,5% in Behandlungsprotokollen mit H₂-Rezeptorantagonisten eine Eradikation von H. pylori erreichten ($p>0,5$). Die Anwendung zweier Antibiotika anstelle eines Antibiotikums steigerte die H. pylori-Eradikationsrate um 16,1% ($p<0,001$). Es zeigte sich weder bei Studien mit zwei Antibiotika noch bei Studien mit einem Antibiotikum ein signifikanter Unterschied zwischen einem Protonenpumpeninhibitor und einem H₂-Rezeptorantagonisten (HOLTMANN, LAYER, GOEBELL 1996). Die Dualtherapie mit Omeprazol und Amoxicillin kann nicht als Therapie der ersten Wahl empfohlen werden, die Eradikationsraten lagen teilweise unter 70-80%. Nicht empfehlenswert ist ebenfalls die duale Therapie mit Omeprazol und Clarithromycin.

Bei den nicht erfolgreichen Eradikationstherapien entwickelten mehr als 60% der *H. pylori*-Stämme eine Resistenz gegen Clarithromycin. War die „Italienische“ Tripeltherapie erfolglos, kann die „Französische“ Tripel-Therapie bei primärem Therapieversagen noch gute Resultate zeigen. Dabei wird jedoch die Applikation der vierfachen Standarddosis von Protonenpumpenhemmern oder die Steigerung der Therapiedauer auf 10 Tage empfohlen. Nach erfolglosen Eradikationstherapien nach der Tripel-Therapie kann die Quadrupel-Therapie noch erfolgreich eingesetzt werden. Dabei handelt es sich um eine therapeutische Alternative, die wegen ihrer Komplexität und der hohen Nebenwirkungsrate nur als Reserveoption angesehen werden sollte. Die Quadrupel-Therapie ist auch bei metronidazol-resistenten *Helicobacter pylori*-Stämmen erfolgreich.

2.7.2 Blutendes Ulkus

Die Eradikationstherapie sollte beim blutenden Ulkus unmittelbar nach endoskopischer oder chirurgischer Blutstillung eingeleitet werden. Die therapeutische Effizienz ist möglicherweise reduziert, wenn Antibiotika erst einige Tage nach einer Monotherapie mit Protonenpumpenhemmern zum Einsatz kommen. Auch bei der Notfallendoskopie sollte eine Biopsie zur histologischen Begutachtung und zum Keimnachweis z.B. durch den Urease-Schnelltest erfolgen. Die Eradikation sollte aber auch ohne Vorliegen der Testergebnisse eingeleitet werden.

Bei Nahrungskarenz erfolgt nach Empfehlung eine intravenöse Kombinationstherapie mit Omeprazol (Dauerinfusion von 200mg/Tag), Amoxicillin (3x 1000mg/Tag i. v.) und Metronidazol (3x 500mg/Tag i. v.). Die intravenöse Kombinationstherapie wird auf die modifizierte Tripeltherapie umgestellt, sobald die orale Therapie möglich ist.

2.7.2.1 Intravenöse Therapie

Omeprazol (Dauerinfusion bis 200mg/Tag)

Amoxicillin (3x 1000mg/Tag i. v.)

Metronidazol (3x 500mg/Tag i. v.)

(CASPARY ET AL. 1996).

2.7.2.2 Orale Therapie

Protonenpumpenhemmer (2x Standarddosis/Tag)	7 Tage
---	--------

Clarithromycin (2x 250mg/Tag)	7 Tage
-------------------------------	--------

Metronidazol (2x 400mg/Tag)	7 Tage
-----------------------------	--------

2.7.2.3 Standarddosen der Protonenpumpenhemmer

20mg Omeprazol

30mg Lansoprazol

40mg Pantoprazol

(CASPARY ET AL. 1996).

2.7.3 Therapie der *Helicobacter pylori*-Infektion in der Pädiatrie

Für die Pädiatrie wurden andere Indikationen für die Eradikation des *H. pylori* als Erkrankungen an peptischen Ulzera vereinbart. Obwohl wiederkehrender abdomineller Schmerz in der Kindheit keine Indikation für eine „test and treat“ Strategie ist, wurde anerkannt, dass Kinder, die eine positive Familienanamnese für peptische Ulzera und Magenkarzinom aufweisen, nach Ausschluss anderer Ursachen getestet werden sollten. Wie die Erwachsenen sollten auch Kinder mit ungeklärter Anämie ohne andere ersichtliche Ursache gegen eine *H. pylori*-Infektion behandelt werden. Es häufen sich Daten, die für eine Verbindung zwischen *H. pylori* und idiopathischer Thrombozytopenie (ITP) sprechen. Nach einer *H. pylori*-Eradikation ist eine signifikante Steigerung der Thrombozyten-Anzahl zu beobachten. In der veröffentlichten Literatur waren 58% der Patienten mit ITP *H. pylori*-infiziert (MALFERTHEINER, MÉGRAUD, O`MORAIN 2005).

Protonenpumpenhemmer sind, mit Ausnahme von Omeprazol, für Kinder unter 18 Jahren nicht zugelassen. Für Pantoprazol und Lansoprazol sind keine relevanten pharmakologischen oder ökonomischen Vorteile gegenüber Omeprazol bekannt. Bei Therapie mit Protonenpumpenhemmern ist insbesondere bei multimorbiden Kindern auf Interaktionen mit anderen durch Zytochrom P450-2C-metabolisierten Pharmaka (Prokinetika, Makrolide, Antikonvulsiva etc.) zu achten (DOCKTER 1999).

Werden andere Protonenpumpenhemmer als Omeprazol eingesetzt, so sind die Eltern über diese Tatsache aufzuklären und Ihr Einverständnis muss für die Eradikationstherapie eingeholt werden. Vor Behandlungsbeginn muss die Diagnose gesichert sein (CASPARY 1996).

Metronidazol sollte aufgrund der Resistenzentwicklung und der Nebenwirkungen zurückhaltend eingesetzt werden (CASPARY 1996; DOCKTER 1999) und bei Kindern nur als Reserveantibiotikum bei Penicillinallergie zum Einsatz kommen (CASPARY 1996). Die Resistenzrate von *Helicobacter pylori*-Stämmen liegt in Europa im Mittel bei 30-40% und reduziert damit die Effektivität der Eradikationstherapie (KOLETZKO, REINHARDT 1997).

Bei in München untersuchten Kindern zeigte sich in über 20% eine primäre Clarithromycin-Resistenz. Mehr als 33% der Isolate zeigte eine Resistenz gegen Metronidazol und bei 11% der Kinder lag eine Doppelresistenz gegen Clarithromycin und Metronidazol vor. Insbesondere bei Kindern empfiehlt sich vor Behandlungsbeginn ein Antibiotogramm (KOLETZKO 2001). Es wird mit einer weiteren Zunahme der Resistenzen gerechnet. Letztendlich wird nur die Entwicklung eines effektiven Impfstoffes das Problem der Antibiotika- Resistenz des *Helicobacter pylori* beseitigen (MÉGRAUD 1998). Die Dualtherapie bestehend aus Omeprazol und Amoxicillin (2x 50mg/Kg/Tag) für die Dauer von zwei Wochen zeigte eine niedrige Sanierungsrate von 60%. Diese Therapie kann nicht empfohlen werden. Bei zusätzlicher Gabe von Clarithromycin (2x 20mg/kg/Tag) wurde eine Eradikation von 87% erreicht. Auffallend ist, dass pädiatrische Patienten eine bedeutend höhere Omeprazol-Dosis als Erwachsene benötigen.

Die Dosierung von Omeprazol beträgt 1-2mg/kg/Tag in zwei Einzeldosen. Trotz der relativ hohen Dosierung wird von einer guten Verträglichkeit berichtet. Mit anderen Protonenpumpenhemmern liegen bei Kindern nur sehr wenige Erfahrungen vor (CASPARY ET AL. 1996).

2.7.3.1 Empfohlene Eradikationstherapie im Kindesalter, Tripel-Therapie

Omeprazol 1 (bis 2) mg/kg KG/Tag (max. 40mg)	7 Tage
Amoxicillin 50mg/kg KG/Tag (max. 2000mg in 2 Dosen)	7 Tage
Clarithromycin 20mg/kg KG/Tag (max. 1000mg in 2 Dosen)	7 Tage

(CASPARY 1996; DOCKTER 1999).

2.7.4 Primäre Therapieschemata und „Rescue-Therapien“ zur Eradikationsbehandlung der H.-pylori-Infektion

2.7.4.1 Primäre Therapieschemata (nach [MCLOUGHLIN, RACZ, BUCKLEY 2004])

Französische Tripeltherapie⁽¹⁾

Pantoprazol⁽²⁾ 20mg+Amoxicillin 2x1000mg+Clarithromycin 2x 500mg (7d)
Italienische Tripeltherapie⁽¹⁾

Omeprazol⁽²⁾20mg+Metronidazol 2x 500mg+Clarithromycin 2x 250mg (7d)

Omeprazol⁽²⁾ 20mg+Amoxicillin/Clavulansäure 2x 1000mg+Clarithromycin 2x 500mg⁽³⁾

PPI 2x täglich+Amoxicillin 2x 100mg (Tag 1-5) > PPI 2x täglich
+Clarithromycin 2x 500mg+Tinidazol 2x 500mg (Tag 6-10)

Englische Tripeltherapie
(PPI 2x täglich+3x 400mg Metronidazol+3x 750mg Amoxicillin)

Omeprazol⁽²⁾ 2x 20mg+Amoxicillin 2x 1000mg+2x 400-800mg Metronidazol
[BAYERDORFFER, LIND, DITE 1999]

Sequenzielle Therapie

Rabeprazol⁽²⁾ 40mg täglich+Amoxicillin 2x 1000mg (tag 1-5)
> Rabeprazol⁽²⁾ 2x 20mg+Clarithromycin 2x 500mg+Tinidazol 2x 500mg
(Tag 6-10) [ZULLO, VAIRA, VAKIL 2003]⁽³⁾

PPI Protonenpumpeninhibitor;

(1) im Maastrich-Konsensus 2000 (MALFERTHEINER; MÉGRAUD, O'MORAIN 2002) empfohlen;

(2) in der Originalpublikation angegeben, kann durch andere PPI ersetzt werden;

(3) neues Schema, nicht durch Konsensus sanktioniert.

Um diese Behandlungsschemata uneingeschränkt für die primäre Eradikationstherapie empfehlen zu können, sind weitere Studien abzuwarten.

2.7.4.2 Rescue-Therapieschemata

(nach [MCLOUGHLIN, RACZ, BUCKLEY 2004])

Besteht nach einem erfolglosen Eradikationsversuch keine Möglichkeit von Anzucht und Resistenzbestimmung oder Gastroskopie, muss auf „Rescue-Therapieschemata“ zurückgegriffen werden.

Omeprazol⁽²⁾ 3x 40mg+Amoxicillin 3x 1000mg (14 d)
[PEITZ, HACKELSBERGER, MALFERTHEINER 1999]⁽³⁾

Pantoprazol⁽²⁾ 2x 40mg+Rifabutin 2x 150mg+Amoxicillin 2x 1000mg (7-10d)
[GISBERT, CALVET, BUJANDRA 2003]⁽³⁾

Omeprazol⁽²⁾ 2x 20mg+ Wismutsubzitat 4x 120mg (nur in Internationaler Apotheke)+Tetracyclin 4x 500mg+Metronidazol 3x 400mg (7d)⁽¹⁾

Pantoprazol⁽²⁾ 2x 40mg+Amoxicillin 2x 1000mg+Levofloxacin 2x 200mg (7-10d) [ZULLO, HASSAN, DE 2003; WATANABE, AOYAMA, SHIRASAKA 2003]⁽³⁾

Rabeprazol⁽²⁾ 2x 20mg+Rifabutin 1x 300mg+Levofloxacin 1x 500mg
[WONG, GU, LAM 2003]⁽³⁾

Französische oder italienische Tripeltherapie mit Verlängerung der Behandlungsdauer [MALFERTHEINER, PEITZ, WOLLE 2004]⁽³⁾

PPI Protonenpumpeninhibitor;

(1) im Maastrich-Konsensus 2000 (MALFERTHEINER; MEGRAUD, O`MORAIN 2002) empfohlen

(2) in der Originalpublikation angegeben, kann durch andere PPI ersetzt werden;

(3) neues Schema, nicht durch Konsensus sanktioniert.

Um diese Behandlungsschemata uneingeschränkt für die primäre Eradikationstherapie empfehlen zu können, sind weitere Studien abzuwarten.

(KIST, GLOCKER, SUERBAUM 2005, MALFERTHAINER, MÈGRAUD, O`MORAIN 2002, MOAYYEDI, SOO, DEEKS 2000, MURAKAMI, FUJIIOKA, OKIMOTO 2002, BAYERDORFFER, LIND, DITE 1999, MCLOUGHLIN, RACZ, BUCKLEY 2004, ZULLO, VAIRA, VADKIL 2003, PEITS, HACKELSBERGER, MALFERTHAINER 1999, GISBERT, CALVET, BUJANDA 2003, ZULLO, HASSAN, DE 2003, WATANABE, AOYAMA, SHIRASAKA 2003, WONG, GU, LAM 2003, OJETTI, MIGNICO, ZOCCO 2004, MALFERTHAINER, PEITZ, WOLLE 2004, GISBERT, HERMIDA, PAJARES 2001, LAMOULIATTE, MÈGRAUD, DELCHIER 2003, BAZZOLI, POZZATO, ROKKAS 2002).

3 *PATIENTEN UND METHODEN*

3.1 *Patienten*

In der Zeit von 26.11.1996 bis 30.04.2001 haben sich 164 pädiatrische Patienten im gastroenterologischen Labor der Medizinischen Klinik II der Universitätskliniken des Saarlandes einem ¹³C-Harnstoff-Atemtest unterzogen. Bei 29 Patienten wurde eine H. pylori-Infektion nachgewiesen, 122 Patienten hatten ein negatives Testergebnis, 5 Patienten zeigten ein grenzwertiges Testergebnis und 8 Proben waren nicht analysierbar. Die Eltern der 29 Patienten mit positivem Testergebnis und Eltern von 51 Patienten mit negativem bzw. grenzwertigem Testergebnis wurden von mir schriftlich benachrichtigt. Nach Aufklärung der Eltern über das Ziel dieser Studie und deren schriftlicher Einverständniserklärung zur Teilnahme erfolgte die kapilläre Blutentnahme und Bestimmung des H. pylori-Infektionsstatus innerhalb von 15min mittels Pyloriset Screen II, (Firma Orion Diagnostica). Bei der Untersuchung erhielten die Eltern der Kinder ein Stuhlprobenröhrchen in einem Umschlag. Die Eltern wurden angewiesen, die Stuhlprobe sofort nach Entnahme an das Forschungslabor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätskliniken des Saarlandes zu senden. An der Studie haben sich insgesamt 50 Patienten beteiligt, ein Patient sandte keine Probe an das Labor. Insgesamt konnten 49 Patienten in der Studie miteinander verglichen werden.

Im Labor wurden die Proben sofort nach Erhalt bis zur Ermittlung des H. pylori-Infektionsstatus mittels FemtoLab H. pylori Cnx (Connex GmbH, Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried, Germany) bei -20°C eingefroren. Das Resultat des FemtoLab H. pylori Cnx bildete die Grundlage der klinischen Diagnostik und den Bezugswert für die Auswertung des Antikörpertests in Hinblick auf Sensitivität und Spezifität.

3.2 Methoden

3.2.1 Enzymimmunoassay (EIA)

FemtoLab H. pylori Cnx (Connex GmbH, Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried, Germany) ist ein qualitativer in vitro-Enzymimmunoassay im Mikrotiterplattenformat zum direkten, nicht-invasiven Nachweis von Helicobacter pylori-Antigenen in humanen Stuhlproben. Der Test basiert auf monoklonalen Antikörpern gegen H. pylori. Durch die Verwendung von monoklonalen Antikörpern werden im Vergleich zu polyklonalen Antikörpern Schwankungen zwischen den unterschiedlichen Chargen vermieden. Beim FemtoLab H. pylori Cnx handelt es um ein Sandwich-Enzym-Immunoassay mit dualer Amplifikationstechnologie. Die inneren Wandungen der Mikrotiterplatte sind mit monoklonalen Antikörpern gegen Helicobacter pylori-Antigene beschichtet. Eine definierte Menge des Überstandes einer Stuhlsuspension wird zusammen mit Peroxidase-markierten monoklonalen Antikörpern in die Kavitäten der Mikrotiterplatten pipettiert. In der Stuhlsuspension vorhandene Antigene von Helicobacter pylori binden während der Inkubationsphase sowohl an Antikörper der Mikrotiterplatte als auch an Antikörper der Peroxidase-markierten Antikörper, es kommt zur Ausbildung eines sog. „Sandwich-Komplexes“. Überschüssige Peroxidase-markierte Antikörper werden durch Waschen der Mikrotiterplatte entfernt.

Danach wird Tetramethylbezidin in die Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert, es kommt zu einer Oxidation des Substrats durch die gebundene Peroxidase, wobei ein blaugefärbtes Produkt entsteht. Nach Zugabe der Stopplösung erfolgt ein Farbumschlag nach gelb. Danach erfolgt eine spektrophotometrische Bestimmung der Farbintensität (Gebrauchsanweisung FemtoLab H. pylori Cnx, Connex GmbH, Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried Germany).

3.2.2 Pyloriset Screen II

Beim Pyloriset Screen II handelt es sich ebenfalls um ein Enzymimmunoassay, das IgG und IgA Helicobacter pylori-Antikörper detektiert. Dem Patienten werden zur Untersuchung 25µl Kapillarblut aus Ohrläppchen oder Fingerbeere mittels eines geeichten Kapillarröhrchens entnommen. Es können auch 10µl Serum verwendet werden. Das zu untersuchende Blut wird dann in die Probenvertiefung der Testkassette pipettiert, dabei wird das Fliesspapier in der Probenvertiefung leicht berührt. Anschließend werden zwei Tropfen Entwickler-Lösung in die Probenvertiefung mit der zu prüfenden Probe getropft. Es erfolgt eine chromatographische Trennung, dabei bilden sich in den beiden oberen Feldern der Testkassette typische Bandenmuster aus. Nach 15 Minuten erfolgt die visuelle Auswertung der Testfelder.

Positiv: Eine deutlich sichtbare Bande im Testfeld „T“ und im Kontrollfeld „C“

Negativ: Nur eine Bande im Kontrollfeld „C“

Nicht auswertbar: Keine Bande, oder nur eine Bande im Testfeld „T“

(Kurzanleitung Pyloriset Screen II (2000), Orion Diagnostika, P.O. Box 83, 02121 Espoo, Finland).

3.2.3 Testdurchführung FemtoLab H. pylori Cnx

Vor Verwendung werden die Reagenzien frühzeitig aus dem Kühlschrank entnommen und auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Reagenzien sind vorsichtig zu durchmischen. 100 ml des 250 mM Phosphat-Waschpufferkonzentrates werden mit 900 ml destilliertem oder entionisiertem Wasser aufgefüllt und gemischt. In einem Teströhrchen werden 500µl Probenpuffer vorgelegt. Die Stuhlprobe wird gemischt und mittels eines Holzstäbchens wird eine erbsengroße Menge des Patientenstuhls (ca. 0,1g) in den Probenpuffer gegeben. Danach mit dem Vortexmixer etwa 15 Sekunden suspendiert und anschließend 5 Minuten bei > 5000 rpm abzentrifugiert. Die aufbereitete Stuhlprobe ist 24 Stunden bei 2-8°C haltbar. In eine Mikrotiterplatte werden 50µl des Überstandes der zu untersuchenden Stuhlproben, sowie jeweils 50µl der Positiv- und Negativkontrolle in je eine Kavität pipettiert. Anschließend wird in jede Kavität 50µl der gebrauchsfertigen Enzymkonjugat-Lösung mit den Peroxidase-konjugierten monoklonalen Antikörpern gegen H. pylori direkt zu der zu untersuchenden Probenlösung gegeben. Die Mikrotiterplatte wird mit einer Klarsichtfolie abgedeckt und für 60 Minuten auf einem Laborschüttler bei 18-27°C inkubiert. Nach 60 Minuten wird die Abdeckfolie entfernt und der Inhalt der Mikrotiterplatte in einen Behälter mit Desinfektionslösung entleert. Jede Kavität wird 5-mal mit jeweils 250-300µl Waschpuffer gespült. Bei der Verwendung von automatischen Waschgeräten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit nach jedem Waschschrift geachtet werden. Nach dem letzten Waschen wird die Mikrotiterplatte gründlich auf saugfähigem Papier ausgeschlagen. Beim Waschen per Hand ist auf das Befüllen jeder Kavität zu achten.

Nach jedem Waschschrift ist auf eine komplette Entleerung der Kavitäten auf Labortüchern unter einem Abzug zu achten. Zu beachten ist, dass die Kavitäten zwischen den einzelnen Waschschriften nicht austrocknen. Nach erfolgter Spülung mittels Waschpufferlösung werden jeweils 100µl der Substratlösung in jede Kavität pipettiert und bei Raumtemperatur für die Dauer von 10 Minuten im Dunkeln inkubiert. Danach wird die Enzymreaktion durch Zugabe von 100µl Stopplösung beendet. Die photometrische Messung erfolgt mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei einer Messwellenlänge von 450nm. Als Referenzwellenlänge sollte das Spektrum von 620 bis 650nm verwendet werden. Der Reader-Abgleich wird gegen Luft durchgeführt. Die Unterseiten der Kavitäten sind auf eventuelle Verschmutzungen zu überprüfen. Innerhalb von 15 Minuten nach Beendigung der Stoppreaktion sollte die Messung erfolgt sein. Flüssigkeiten, die mit potentiell infektiösem Material kontaminiert wurden, werden in einem Behälter mit Desinfektionsmittel entsorgt. Die Positiv- und Negativkontrolle sind bei jeder Testreihe mitzuführen, um Reagenzien- stabilität und die korrekte Testdurchführung zu überprüfen. Folgende Kriterien müssen erfüllt sein, ansonsten ist der Test zu wiederholen:

Positivkontrolle $OD_{450/620 \text{ bis } 650\text{nm}} > 1,00$ ($OD_{450\text{nm}} > 1,04$)

Negativkontrolle $OD_{450/620 \text{ bis } 650\text{nm}} < 0,10$ ($OD_{450\text{nm}} < 0,14$)

(Gebrauchsanweisung FemtoLab H. pylori Cnx, Connex GmbH,
Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried Germany).

3.3 Nachweis einer *H. pylori*-Infektion

Ein Patient wurde als positiv gewertet, wenn das Resultat des FemtoLab *H. pylori* Cnx positiv war. Die spektrophotometrische Messung erfolgte bei 450nm gegen eine Referenzwellenlänge zwischen 620 bis 650 nm. Wir übernahmen den vom Hersteller festgelegten Cut-off-Wert.

3.3.1 Messung bei Wellenlänge 450nm

Proben mit Extinktionswerten $> 0,150$ sind als positiv zu werten.

Proben mit Extinktionswerten $< 0,150$ sind als negativ zu werten.

Ein positives Resultat zeigt das Vorhandensein von *H. pylori*-Antigenen in der Stuhlprobe an. Ein negatives Resultat zeigt die Abwesenheit von *H. pylori* oder eine Antigenkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze an. Extrem hohe Antigenkonzentrationen in den Stuhlproben können innerhalb weniger Minuten präzipitieren, die Bewertung erfolgt ebenfalls als positiv.

Das Vorkommen von Testergebnissen innerhalb von 0,020 Absorptionseinheiten um den Cut-off-Wert sollte zu vorsichtigen Interpretationen führen.

3.3.2 Nachweisgrenze

Nach Angaben des Herstellers können 5 femtomol *Helicobacter pylori*-Antigen pro Gramm Stuhl nachgewiesen werden.

(Gebrauchsanweisung FemtoLab *H. pylori* Cnx, Connex GmbH, Am Klopferspitz 19, 82152 Martinsried Germany).

3.4 Evaluierung des Pyloriset Screen II bei Erwachsenen

Bei einer finnischen Studie sind mit insgesamt 207 aufeinanderfolgenden erwachsenen, ambulanten Patienten im Alter von 19 bis 83 Jahren (Median 55 Jahre), davon 122 Frauen (59%), die an das städtische Krankenhaus Herttoniemi in Helsinki zur Durchführung einer Gastro-duodenoskopie zwischen Oktober 1996 und März 1997 überwiesen wurden, eingeschlossen worden. 44 Patienten waren unter 40 Jahre, 78 Patienten waren zwischen 40 und 59 Jahre alt, 82 Patienten waren zwischen 60 und 80 Jahre alt und 3 Patienten waren über 80 Jahre alt. Patienten, die keine Eradikationstherapie in der Vergangenheit erhielten, die bereit und fähig waren die schriftliche Zustimmung zu erteilen, waren in die Studie eingeschlossen. Die Zustimmung der Ethikkommission der Stadtgesundheitsbehörde von Helsinki wurde erteilt. Die Endoskopien wurden von zwei der Autoren durchgeführt (Aina Oksanen und Lea Veijola). Zwei biopsierte Gewebeproben für die histologische Untersuchung wurden jeweils aus dem Antrum und Korpus (jeweils von der anterioren und posterioren Magenwand) entnommen. Die Gewebeproben wurden mit Hämatoxyllin-Eosin, Alcian Blau(pH 2,5)-perjodsäure-Schiff und nach modifiziertem Giemsa gefärbt. Die Gewebeproben wurden „blind“ von einem Pathologen begutachtet und nach dem Sydney System bewertet. Die Bewertung der Proben aus Antrum und Korpus erfolgte getrennt. Zusätzlich wurde mit erhaltenen Antrum und Korpus-Biopsien ein Urease-Schnelltest durchgeführt (Hut-Test; Astra GmbH, Wedel, Germany), der nach 30 Minuten, 3 Stunden und 24 Stunden nach Herstellerempfehlung abgelesen wurde. Gewebeproben aus Antrum und Korpus für die Kultur des Keims wurden von 113 Patienten entnommen.

Die Proben wurden auf Brucella-Agar-Platten (BBL, Cockeysville, Md.), ergänzt mit Pferdeblut (7%) und Iso Vitalex (1%) übertragen. Ausserdem wurden selektive Brucella-Agar-Platten mit Vancomycin (6mg/l; Eli Lilly, Indianapolis, Ind), Amphotericin (2mg/l; Sigma, St. Louis, Mo.) und Nalidixinsäure (20mg/l; Sigma) verwendet. Die Platten wurden bei 37°C in einer Atmosphäre von 5% Sauerstoff, 10% Kohlendioxid und 85% Stickstoff inkubiert. Die Platten wurden vom 3. bis zum 12. Tag täglich untersucht. Isolierte Keime wurden auf der Basis vom Erscheinungsbild der Kolonie, Gramfärbung und positiven Reaktionen in biochemischen Tests (Katalase, Oxidase und Urease) identifiziert. Jedem Patienten wurde während des Termins zur Endoskopie Blut entnommen und bei -20°C bis zur Analyse eingeforen. IgG- und IgA-Antikörper gegen H. pylori-Antigene wurden beide mit einem hausinternen Enzymimmunoassay jeweils separat und mittels Pyloriset Screen II IgG und IgA zusammen gemessen. Das hausinterne Enzymimmunoassay verwendet als Antigen ein Glycerinsäureextrakt von H. pylori NCTC 11637. Die Absorptionsmesswerte wurden umgewandelt in End-Punkt-Titer. Die End-Punkt-Titer waren Serumverdünnungsfaktoren, die durch den Cut-off-Level auf der Basis der optischen Dichte positiver Ergebnisse in konstanter Verdünnung definiert wurden. Es wurden getrennte Ergebnisse für IgG und IgA verwendet. Pyloriset EIA-G und EIA-A wurde gemäß der Herstellerempfehlung durchgeführt. Weitere Serumproben wurden nach H. pylori-Antigenen mittels Pyloriset Dry (Orion Diagnostica), eines Latexagglutinationstests gemäß der Herstellerempfehlung durchgeführt. Für Pyloriset Screen, ein indirektes Fest-Phasen Enzym-Immunoassay, wurde eine Lanzette verwendet, um eine Fingerbeere zu punktieren. Es wurden 25µl Blut mittels eines Kapillarröhrchens entnommen. Die Blutprobe und 2 Tropfen einer Entwicklungslösung wurden in die untere Öffnung des Testfeldes überführt.

Das Prinzip des Tests basiert auf Kapillarkräften. Die Probe und die Entwickler-Lösung wandern entlang einer mit *Helicobacter pylori* imprägnierten Testmembran und mobilisieren ein gefärbtes Konjugat mit Anti-Humanimmunglobulin. Im Falle einer positiven Probe bildet sich ein Komplex aus *H. pylori*-Antikörpern und dem gefärbten Konjugat mit Anti-Humanimmunglobulin. Dabei bildet sich ein sichtbarer diskreter Streifen im Testfeld aus. Ohne Berücksichtigung der Anwesenheit von *H. pylori* bildet sich im Kontrollfeld ein weiterer Streifen aus immobilisierten Konjugatspezifischen Antikörpern aus. Der Test wird als positiv berücksichtigt, wenn sich jeweils ein waagrechter gefärbter Streifen in Test- und Kontrollfenster ausgebildet hat. In der Studie wurde das Ergebnis nach 10 Minuten abgelesen. Bei negativem Testresultat erfolgte die Ablesung nach 30 Minuten. Das Auftreten eines selbst noch so diskreten roten Streifens im Testfeld wurde als positiver Test gewertet. Alle 77 Patienten, die eine histologisch gesicherte *H. pylori*-Infektion aufwiesen, litten an einer Gastritis, 74 Patienten dieser Gruppe zeigten in allen vier serologischen Testverfahren ein positives Ergebnis. Ein histologisch gesicherter *H. pylori*-positiver Patient zeigte erhöhte IgA-Antikörper nur in zwei EIAs und zeigte positive Ergebnisse in den beiden Schnelltests. Die übrigen drei Patienten mit positivem Histologieergebnis zeigten positive Resultate in den drei zuvor validierten serologischen Tests. Bei allen 34 Patienten mit positiver Kultur wurden auch *Helicobacter pylori* bei der histologischen Untersuchung nachgewiesen. In der *Helicobacter pylori*-Diagnostik existiert kein „Goldstandard“ und die alleinige histologische Untersuchung kann in einigen Fällen nicht sensitiv genug sein. Eine positive Histologie (und Kultur) oder die Kombination von Gastritis und erhöhtem IgG-Antikörpertiter in beiden Enzymimmunoassays wurden als Kriterium für die *H. pylori*-Infektion ausgewählt. Desshalb wurden 82 Patienten als *H. pylori*-positiv berücksichtigt.

Vier von fünf positiven Patienten mit *Helicobacter pylori*-negativer Gastritis zeigten einen positiven Pyloriset Dry- und Pyloriset Screen-Test in Zusammenhang mit erhöhten IgG-Antikörpertitern in zwei Enzymimmunoassays. Die Ergebnisse der Sensitivität und Spezifität basieren auf den bereits beschriebenen Infektionskriterien und der Histologie. Acht Patienten zeigten einen positiven Pyloriset Screen-Test, obwohl die Kriterien für eine *H. pylori*-Infektion nicht erfüllt waren. Sechs dieser acht Patienten zeigten auch in einem weiteren Serologietest ein positives Ergebnis. Zwölf Patienten mit Ulcus duodeni waren in beiden histologischen Untersuchungen und in allen vier serologischen Tests als positiv befundet worden. In der Studienpopulation waren 63 Patienten jünger als 45 Jahre. Zwölf von ihnen wurden als *H. pylori*-Positive berücksichtigt, die das Vorkommen von *H. pylori* in allen biopsierten Gewebeproben und ein positives Ergebnis in allen serologischen Tests zeigten. Von den 51 *H. pylori*-negativen Patienten, die weniger als 45 Jahre alt waren, zeigte ein Patient ein positives Ergebnis im Pyloriset Screen Test, die anderen serologischen Tests zeigten ein negatives Ergebnis. Der Pyloriset Screen zeigte bei 64 Patienten innerhalb von 10 Minuten ein positives Testergebnis und wurde innerhalb von 30 Minuten für weitere 22 Patienten positiv. Der zu evaluierende Pyloriset Screen erreichte in der Studie eine Sensitivität von 95%, eine Spezifität von 94%, einen positiven prädiktiven Wert von 91% und einen negativen prädiktiven Wert von 97% (OKSANEN, VEIJOLA, SIPPONEN 1998).

3.5 Statistik

Ein Patient wurde als positiv gewertet, wenn das Resultat des FemtoLab H. pylori Cnx positiv war. Für den Pyloriset Screen II (Firma Orion Diagnostica) wurden Spezifität, Sensitivität, positiv- und negativ prädiktiver Wert sowie Effizienz ermittelt.

Die Sensitivität (S) gibt die Wahrscheinlichkeit eines richtig positiven Testergebnisses an. Sie wird geschätzt durch die Anzahl der Infizierten mit einem positiven Testergebnis unter allen H. pylori-Infizierten:

$S(\%) = \text{Test richtig positiv} \times 100 / \text{Anzahl aller H. pylori-Infizierten.}$

Die Spezifität (Sp) gibt die Wahrscheinlichkeit eines richtig negativen Testergebnisses an. Sie wird geschätzt durch die Anzahl der Gesunden mit einem negativen Testergebnis unter allen Gesunden:

$Sp(\%) = \text{Test richtig negativ} \times 100 / \text{Anzahl aller Gesunden.}$

Der positiv prädiktive Wert (p.p.W.) ist ein Schätzwert und gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass bei einer testpositiven Person eine H. pylori-Infektion vorliegt:

$p.p.W.(%) = \text{Test richtig positiv} \times 100 / \text{Gesamtzahl aller positiven Tests.}$

Der negativ prädiktive Wert (n.p.W.) ist ein Schätzwert und gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass bei einer testnegativen Person keine H. pylori-Infektion vorliegt:

$n.p.W.(%) = \text{Test richtig negativ} \times 100 / \text{Gesamtzahl aller negativen Tests}$

Die Effizienz (E) ist ein Schätzwert und berechnet die Wahrscheinlichkeit des richtigen Testergebnisses, sowohl bei richtig positiven als auch bei richtig negativen Personen:

$E(%) = \text{Test richtig positiv} + \text{Test richtig negativ} / \text{Gesamtzahl aller Tests}$

(HILGERS, BAUER, SCHREIBER 2003, BORTZ, LIENERT 2003, KUNDT KRENTZ 2003, WEIß 2002).

4 **ERGEBNISSE**

4.1 **Direkter Vergleich der Testverfahren**

Im Rahmen der Studie waren insgesamt 50 Patienten untersucht worden. In einem dieser Fälle war neben dem Pyloriset Screen II (Schnelltest) kein FemtoLab H. pylori Cnx (EIA) durchgeführt worden, so dass bei 49 Patienten die beiden Testverfahren miteinander verglichen werden konnten.

Mittels EIA konnte, im Vergleich mit dem Schnelltest, bei einem deutlich größeren Patientenanteil ein positives Ergebnis nachgewiesen werden. Während anhand des EIA bei 11 Patienten (22,4%) ein positiver Befund gezeigt werden konnte, war dies beim Schnelltest nur bei sechs Patienten (12,0%) der Fall (Tab. 1).

Tab. 1: Ergebnisse der beiden Testverfahren im Vergleich

	EIA (n=49)*		Schnelltest (n=50)	
	negativ	positiv	negativ	positiv
Anzahl der Patienten	38	11	44	6
Anteil (%)	77,6	22,4	88,0	12,0

*ein fehlender Wert

Bei insgesamt 42 der 49 Patienten (85,7%) lag eine Übereinstimmung der Ergebnisse beider Testverfahren vor. Bei fünf Patienten (10,2%) waren beide Ergebnisse positiv, bei 37 Patienten (75,5%) waren beide Ergebnisse negativ.

Bei knapp 15 Prozent der Patienten konnte keine Übereinstimmung zwischen Schnelltest und EIA festgestellt werden (Tab.2).

Tab. 2: Übereinstimmungen zwischen FemtoLab H. pylori Cnx (EIA) und Schnelltest

EIA <u>und</u> Schnelltest positiv		EIA <u>und</u> Schnelltest negativ		EIA ungleich Schnelltest		gesamt	
N	%	N	%	N	%	N	%
5	10,2	37	75,5	7	14,3	49	100

4.2 Vergleich aus der Perspektive des jeweiligen Tests

4.2.1 Ergebnis aus der Perspektive des Pyloriset Screen II

Beim Vergleich der beiden Testverfahren aus der Perspektive des Schnelltests ergab sich eine relativ große Übereinstimmung der Ergebnisse. Unter den 43 Patienten, die im Schnelltest einen negativen Befund aufwiesen, fand sich auch bei 37 Patienten (86,0%) ein negativer Befund des EIA. Gleichzeitig wiesen von den sechs Patienten mit positivem Schnelltest auch fünf (83,3%) einen positiven EIA-Befund auf (Tab.3).

Tab. 3: Ergebnisse aus der Perspektive des Schnelltests

Schnelltest	EIA			
	negativ		positiv	
	n	%	n	%
negativ (n=43)*	37	86,0	6	14,0
positiv (n=6)	1	16,7	5	83,3

*Insgesamt liegen 44 negative Schnelltest-Ergebnisse vor; es fehlt jedoch ein korrespondierendes EIA-Ergebnis.

4.2.2 Ergebnis aus der Perspektive des FemtoLab H. pylori Cnx

Bei der Betrachtung der beiden Testverfahren, aus der Perspektive des EIA, ergab sich eine große Übereinstimmung bezüglich der negativen Ergebnisse. Von den insgesamt 38 negativen EIA-Befunden wiesen auch im Schnelltest 37 Patienten (97,4%) einen negativen Befund auf. Eine geringe Übereinstimmung bestand jedoch im Hinblick auf die positiven Ergebnisse. Von den elf positiven EIA-Ergebnissen wiesen lediglich fünf (45,5%) auch im Schnelltest einen positiven Befund auf. Legt man die Ergebnisse des EIA als "wahre" Größe zugrunde, bzw. geht man davon aus, dass alle Patienten mit positivem EIA-Ergebnis auch tatsächlich eine *Helicobacter*-Infektion aufwiesen, so bedeutet dies, dass weniger als die Hälfte aller Infektionen bei Kindern mittels des Schnelltest erfasst werden können (Tab.4).

Tab. 4: Ergebnisse aus der Perspektive des FemtoLab H. pylori Cnx (EIA)

EIA	Schnelltest			
	negativ		positiv	
	n	%	n	%
negativ (n=38)	37	97,4	1	2,6
positiv (n=11)	6	54,5	5	45,5

4.3 Präzision des Pyloriset Screen II

Um die Sensitivität, die Spezifität und die Effizienz des Schnelltests zu ermitteln, wurde die Annahme zu Grunde gelegt, dass die Ergebnisse des FemtoLab H. pylori Cnx (EIA) der "wahren" Größe entsprechen. Ein positiver EIA-Befund wurde demnach als sicher positives Ergebnis gewertet, ein negativer EIA-Befund als ein sicher negatives Ergebnis. Auf der Basis dieser Hypothese wurde die Testempfindlichkeit des Schnelltests nach folgendem Muster berechnet:

	EIA +	EIA -
Schnelltest +	A	B
Schnelltest -	C	D

$$\text{Sensitivität} = A / (A+C)$$

[Anteil der richtig positiven Schnelltest-Ergebnisse an allen positiven EIA-Ergebnissen]

$$\text{Spezifität} = D / (B+D)$$

[Anteil der richtig negativen Schnelltest-Ergebnisse an allen negativen EIA-Ergebnissen]

$$\text{Effizienz} = (A+D) / (A+B+C+D)$$

[Anteil der richtig positiven Befunde plus Anteil der richtig negativen Befunde an allen Patienten (n=49)]

Positiv prädiktiver Wert = $A / (A+B)$

[Anteil der Infizierten mit positivem Test an der Gesamtzahl der testpositiven Fälle]

Negativ prädiktiver Wert = $D / (C+D)$

[Anteil der Nichtinfizierten mit negativem Test an der Gesamtzahl der testnegativen Fälle]

	EIA +	EIA -	Gesamt
Schnelltest +	5	1	6
Schnelltest -	6	37	43
Gesamt	11	38	49

Anhand der Berechnungen ergab sich für den Schnelltest eine Spezifität von 97,4% und eine Sensitivität von 45,5%. Die Effizienz des Schnelltests betrug 85,7%, der Positiv prädiktive Wert 83,3% und der Negativ prädiktive Wert betrug 86,1% (Tab. 5).

Aus den obigen Daten ergibt sich im Hinblick auf die praktische Anwendung folgendes: Ein positiver Schnelltest bedeutet auch mit relativ großer Wahrscheinlichkeit, dass tatsächlich eine Infektion vorliegt; fünf der sechs positiven Schnelltestbefunde (83,3%) waren richtig positiv bzw. nur einer falsch positiv. Ein negatives Ergebnis schließt allerdings eine Infektion nicht mit hinreichender Sicherheit aus, da unter allen elf Infektionen nur fünf (45,5%) mittels des Schnelltests erkannt worden waren.

Tab. 5: Testempfindlichkeit des Schnelltests

Pyloriset Screen II	%
Sensitivität (%)	45,5
Spezifität (%)	97,4
Effizienz (%)	85,7
Positiv prädiktiver Wert	83,3
Negativ prädiktiver Wert	86,1

4.4 Atemtest vor Studienbeginn

Bei 46 der 50 untersuchten Patienten war vor Studienbeginn ein Atemtest zum Nachweis einer Helicobacter-Infektion durchgeführt worden. Dabei wiesen 26 Patienten (56,5%) einen positiven Befund im Atemtest auf. Ein positiver Befund konnte jedoch später anhand des FemtoLab H. pylori Cnx (EIA) nur bei 11 Patienten beobachtet werden (Tab. 6).

Bei keinem der Patienten mit negativem Atemtestergebnis konnte später mittels EIA ein positiver Befund nachgewiesen werden. Geht man davon aus, dass es beim Atemtest keine falsch negativen Ergebnisse gab, so handelte es sich in keinem Fall um eine Neuinfektion, also um eine Infektion, die zeitlich nach dem Atemtest aufgetreten war.

Tab. 6: EIA und Atemtest vor Studienbeginn im Vergleich

	EIA (n=49)*		Atemtest vor Studienbeginn (n=46)**	
	negativ	positiv	negativ	positiv
Anzahl der Patienten	38	11	20	26
Anteil (%)	77,6	22,4	43,5	56,5

*ein fehlender Wert

**vier fehlende Werte

4.5 Gastroskopie

Bei insgesamt neun der Patienten war eine Gastroskopie durchgeführt worden. In acht dieser Fälle lag gleichzeitig auch ein EIA-Befund anhand des FemtoLab H. pylori Cnx vor. Von diesen acht gastroskopierten Patienten konnte mittels FemtoLab H. pylori Cnx (EIA) bei nur einem Patienten (12,5%) eine Helicobacter-Infektion nachgewiesen werden; bei den übrigen sieben Patienten (87,5%) fand sich ein negativer EIA-Befund (Tab. 7).

Tab. 7: Gastroskopie und Helicobacter-Infektion

EIA	Gastroskopie durchgeführt			
	nein		ja*	
	n	%	n	%
negativ (n=38)	31	77,5	7	87,5
positiv (n=11)	9	22,5	1	12,5

*Insgesamt waren 9 Gastroskopen durchgeführt worden, in einem Fall fehlt jedoch der EIA -Befund.

5 DISKUSSION

Anhand der Berechnungen ergibt sich für den Pyloriset Screen II eine Spezifität von 97,4%, eine Sensitivität von 45,5%, eine Effizienz von 85,7%, ein positiv prädiktiver Wert von 83,3 und ein negativ prädiktiver Wert von 86,1%. Die Ergebnisse zeigen, dass der Schnelltest zwar eine sehr hohe Spezifität aufwies, die Sensitivität war aber sehr unbefriedigend gewesen. Ein positiver Schnelltest bedeutet mit relativ großer Wahrscheinlichkeit, dass tatsächlich eine Infektion vorliegt; fünf der sechs positiven Schnelltestbefunde (83,3%) waren richtig positiv bzw. nur einer falsch positiv. Ein negatives Ergebnis schließt allerdings eine Infektion nicht mit hinreichender Sicherheit aus, da unter allen elf Infektionen nur fünf (45,5%) mittels des Schnelltests erkannt worden waren. Geht man davon aus, dass alle Patienten mit positivem FemtoLab H. pylori Cnx Ergebnis auch tatsächlich eine Helicobacter-Infektion aufwiesen, so bedeutet dies, dass weniger als die Hälfte aller Infektionen bei Kindern mittels des Schnelltests erfasst werden können.

Zur Evaluierung des Pyloriset Screen in einer Erwachsenenpopulation sind bei einer finnischen Studie insgesamt 207 aufeinanderfolgende erwachsene ambulante Patienten im Alter von 19 bis 83 Jahren (Median 55 Jahre), davon 122 Frauen (59%), in die Studie eingeschlossen worden. Dabei erreichte der zu evaluierende Pyloriset Screen in der Studie eine Sensitivität von 95%, eine Spezifität von 94%, einen positiven prädiktiven Wert von 91% und einen negativen prädiktiven Wert von 97% (OKSANEN, VEIJOLA, SIPPONEN 1998).

Die Ergebnisse der Sensitivität des Pyloriset Screen II unserer Studie stimmen mit den Ergebnissen anderer Autoren vergleichbarer Studien mit pädiatrischen Populationen überein. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass es bei Testverfahren, die nicht für pädiatrische Populationen validiert sind und die dabei den insgesamt niedrigeren kindlichen Antikörperspiegel nicht durch eine Herabsetzung des Grenzwertes berücksichtigen, es zu einem deutlichen Abfall der Sensitivität kommt. In einer englischen Studie wären bei Verwendung der gültigen Grenzwerte für Erwachsene nur 10 von 21 infizierten Kindern mit dem serologischen Test als positiv erkannt worden. Ein Latexagglutinationstest zeigte in einer anderen Studie bei Erwachsenen eine Sensitivität von 92%, bei Kindern imponierten lediglich 36% (DAY, MITCHELL, BOHANE 2004). Bei einer Studie die in Leeds durchgeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass im Vergleich der Seren von histologisch H. pylori negativ getesteten Erwachsenen mit den von histologisch H. pylori negativ getesteten Kindern, der Grenzwert für ein positives ELISA-Ergebnis bei den Erwachsenen größer war als bei den Kindern. Daraus folgt, dass die Testverfahren zuerst in pädiatrischen Populationen validiert werden müssen (CRABTREE, MAHONY, TAYLOR 1991). Nachdem in Chile bei einer Studie die Grenzwerte bei Kindern und Erwachsenen entsprechend der örtlichen Population korrigiert wurden, zeigten sich bei den beiden beteiligten kommerziellen EIA bessere Ergebnisse der Spezifität, des positiven und negativen prädiktiven Werts, als bei Verwendung von Grenzwerten, die in anderen Populationen validiert wurden. Es ist notwendig die Grenzwerte entsprechend der örtlichen Population zu korrigieren (HARRIS, PEREZ-PEREZ, ZYLBERG 2005). Zusammenfassend darf ein Testverfahren nur dann eingesetzt werden, wenn zuvor eine Validierung in der Zielpopulation erfolgt ist (KOLETZKO, RHEINHARDT 1997; DAY, MITCHELL, BOHANE 2004).

Die zur Zeit verfügbaren serologischen Verfahren sind bei Kindern zur Diagnose einer H. pylori-Infektion nicht geeignet (KOLETZKO 2001, DRUMM, KOLETZKO, ODERDA 2000).

In einer amerikanischen Studie (WESTBLOM, MADAN, GUDIPATI 1992) wurden die Ergebnisse eines Latexagglutinationsschnelltests einer Erwachsenen Population mit einer pädiatrischen Population verglichen. Dabei wurde der Pyloriset in einer Population von 100 Erwachsenen und 50 pädiatrischen Patienten evaluiert. Der Test identifizierte 60 von 65 H. pylori infizierten Patienten korrekt. Falsch-positiv waren 12 Patienten getestet worden, bei 5 Patienten waren falsch-negative Reaktionen beobachtet worden. Der Pyloriset zeigte eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 66%. Der Positiv prädiktive Wert betrug 83%, der Negativ prädiktive Wert betrug 82%. Im Gegensatz zur Erwachsenen Population zeigte der Test in der pädiatrischen Population eine Sensitivität von lediglich 36%, der Positiv prädiktive Wert betrug nur 40%.

Die Ergebnisse in der pädiatrischen Population waren inadäquat gewesen (WESTBLOM, MADAN, GUDIPATI 1992). In mehreren neueren Studien über nichtinvasive Diagnostik der H. pylori-Infektion konnten serologische Nachweisverfahren für eine Helicobacter pylori-Infektion für pädiatrische Patienten nicht empfohlen werden (DRUMM, KOLETZKO, ODERDA 2000; VINETTE, GIBNEY, PROUJANSKY, FAWCETT 2004; KOLETZKO 2005).

Bessere Ergebnisse lieferten kürzlich eine japanische (OKUDA, SUGIYAMA, FUKUNAGA 2005) und eine italienische Studie (SABBI, DE ANGELIS, COLISTRO 2005). Die japanische Studie, in der zwei Enzymimmunoassays für die serologische Diagnostik von H. pylori miteinander verglichen wurden, lieferte interessante und vielversprechende Ergebnisse. Ein EIA basiert auf den JHM-CAP (Japanese strain-derived-high-molecular-weight cell-associated proteins), aus japanischen Bakterienstämmen abgeleitete Proteine.

Beim anderen Test handelt es sich um ein zuvor in den USA entwickeltes EIA, das auf den HM-CAP (U.S. strain-derived-high-molecular-weight cell-associated proteins) basiert, einem von U.S. Bakterienstämmen abgeleitete Proteine. Serumproben von 131 japanischen asymptomatischen Kindern wurden getestet. Eingeschlossen waren 43 H. pylori positive Patienten und 88 negative Patienten. Als Vergleich diente der HpSA test, ein EIA, dass Helicobacter pylori-Antigene im Stuhl detektiert. Beide Tests zeigten eine vergleichbare und verlässliche Spezifität, aber die Sensitivität des JHM-CAP EIA betrug 93,0%, während die Sensitivität des HKM-CAP-EIA 67,4% betrug. In der Gruppe der unter 10-jährigen erzielte das HM-CAP-EIA mehr falsch-negative Resultate. Immunoblot-Analysen offenbarten, dass das JHM-CAP nicht aber das HM-CAP-Präparat, ein 100-kDa erkannt hatte, welches sich in JHM-CAP-positiven Seren befand. Daraus wurde geschlossen, dass das JHM-CAP-EIA ein sehr genaues Verfahren für die Serodiagnostik von H. pylori-Infektionen bei jungen japanischen Kindern ist und die hohe Sensitivität des JHM-CAP-EIA im Gegensatz zum HM-CAP-EIA auf das Vorhandensein eines 100-kDa Antigens in japanischen Bakterienstämmen zurückzuführen ist, das von dem Wirtsimmunsystem bereits in einem frühen Stadium der Infektion erkannt werden kann (OKUDA, SUGIYAMA, FUKUNAGA 2005). In der italienischen Studie (SABBI, DE ANGELIS, COLISTRO 2005) unterzogen sich 250 Kinder einer Gastroduodenoskopie mit Biopsie (Histologische Untersuchung und Urease-Schnelltest). Von allen Patienten wurde ein Stuhltest, ein serologischer Test der H. pylori-Immunglobulin G detektiert und ein weiterer serologischer Test der Cytotoxin-Assoziiertes-Gen-Produkt A Immunglobulin G detektiert, durchgeführt. Sensitivität und Spezifität wurden mit dem Goldstandard der invasiven Diagnostik verglichen. Dabei zeigte der Immunglobulin G detektierende Test eine Sensitivität von 86%, eine Spezifität von 80%, einen positiv prädiktiven Wert von 72% und einen negativ prädiktiven Wert von 90%.

Der Cytotoxin-Assoziiertes-Gen-Produkt A Immunglobulin G detektierende Test imponierte mit einer Sensitivität von 83%, einer Spezifität von 80%, einem positiv prädiktivem Wert von 71% und einem negativ prädiktivem Wert von 89% (SABBI, DE ANGELIS, COLISTRO 2005).

Nachdem in einer schwedischen Studie (SUNNERSTAMM, KJERSTADIUS, JANSSON 1999) die Evaluierung mit 99 pädiatrischen Serumproben eines serologischen EIA für *Helicobacter pylori* vorgenommen wurde, wurde ein Grenzwert von 0,35 Absorbtionseinheiten ermittelt. Publiziert wurde ein Grenzwert von 0,70 Absorbtionseinheiten für Erwachsene. Bei einem Grenzwert von 0,35 Absorbtionseinheiten imponierte eine Sensitivität von 93%, eine Spezifität von 97%, ein positiver und ein negativ prädiktiver Wert von 93% und 97%. Danach wurden 169 Serumproben von Kindern mit vier verschiedenen serologischen Tests analysiert, um die Leistung des Hauseigenen EIA mit Pyloriset, HM-CAP und Helico-G kits zu vergleichen. Mit dem Helico-G wurden 10 falsch positive und keine falsch negativen Ergebnisse ermittelt. Der Pyloriset zeigte 3 falsch positive Ergebnisse und keine falsch negativen Ergebnisse. Mit dem HM-CAP wurden 3 falsch negative und 1 falsch positives Ergebnis beobachtet. Bei einer von 169 Proben zeigte das Hausinterne EIA ein falsch positives Ergebnis und kein falsch negatives Ergebnis. Für die serologische Diagnostik einer *Helicobacter pylori*-Infektion sind niedrigere, speziell für Kinder gut eingeführte Grenzwerte erforderlich. Ein positiver serologischer Test zum Nachweis einer *H. pylori*-Infektion muss insbesondere bei Kindern wegen der Möglichkeit einer spontanen Eradikation mit fortbestehender Immunantwort durch eine Referenzmethode überprüft werden (SUNNERSTAMM, KJERSTADIUS, JANSSON 1999).

Abschließend ist festzuhalten:

1. Der Pyloriset Screen II der Firma Orion Diagnostika ist in der verwendeten Version keine geeignete Screeningmethode bei Kindern.
2. Ein positiver Befund in der Serodiagnostik ist auch nach einer Eradikationstherapie möglich und kann zur falschen Diagnose einer „akuten Infektion mit *Helicobakter pylori*“ führen.
3. Ein serologisches Testverfahren ist zur Eradikationskontrolle nur bedingt geeignet, da der Zeitpunkt der Serokonversion nicht exakt bestimmt werden kann und somit unsicher ist.
4. Ein serologisches Testverfahren sollte nur dann eingesetzt werden, wenn zuvor eine Validierung in der Zielpopulation erfolgt ist.
5. Insgesamt ist für serologische Testverfahren zu fordern, dass niedrigere und speziell für Kinder gut eingeführte Grenzwerte verfügbar sind.
6. Bei einem EIA, das auf Proteinen basiert, die von Bakterienstämmen der örtlichen Population abgeleitet wurden, sind signifikant bessere Ergebnisse bei Tests der örtlichen Population erzielt worden.
7. Offensichtlich liefern serologische Testverfahren nach einer Evaluierung in einer pädiatrischen Population und Anpassung der Grenzwerte für diese Population respektable Ergebnisse.
8. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei Verwendung von Proteinen die von Bakterienstämmen der örtlichen Population abgeleitet wurden und spezifisch für diese sind, die Sensitivität eines serologischen Test für diese Population deutlich gesteigert werden kann.

6 *LITERATURVERZEICHNIS*

- 1 Agha-Amiri K, Peits U, Mainz D, Kahl S, Leodolter A, Malfertheiner P (2001) A novel immunoassay based on monoclonal antibodies for the detection of *Helicobacter pylori* antigens in human stool. *Z Gastroenterol* 39:555-560
- 2 Alm RA, Ling LS, Moir DT et al. (1999) Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 397:176-180
- 3 Anleitung zum ¹³C-Atemtest, Universitätskliniken des Saarlandes
- 4 Bayerdorffer E, Lind T, Dite P et al. (1999) Omeprazole, amoxicillin and metronidazole for the cure of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:19-22
- 5 Bazzoli F, Pozzato P, Rokkas T (2002) *Helicobacter pylori*: the challenge in therapy. *Helicobacter* 7:43-49
- 6 Blaser MJ, Atherton JC (2004) *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 113:321-333
- 7 Bortz J, Lienert GA (2003) Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung. 2. Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg, 237-242

- 8 Bründler MA, Marchetti E, Belli D, Borisch B (1997) Helicobacter und nicht-Helicobacter assoziierte Gastritis bei Kindern. Verh Dtsch Ges Path 81:437
- 9 Caspary WF, Arnold R, Bayerdörffer E, Behrens R, Birkner B, Braden B, Domschke W, Labenz J, Koletzko S, Malfertheiner P, Menge H, Rösch W, Schepp W, Strauch M, Stolte M (1996) Diagnostik und Therapie der Helicobacter pylori-Infektion. DGVS- Leitlinien I, Z Gastroenterol 34:392-401
- 10 Costa M, Mumolo MG, Bellini M, Romano R, Manghetti M, Paci A, Maltinti G, Marchi S (2001) Post-treatment diagnostic accuracy of a new enzyme immunoassay to detect Helicobacter pylori in stools. Aliment Pharmacol Ther 15:395-401
- 11 Crabtree JE, Mahony MJ, Taylor JD, Heatley RV, Littlewood JM, Tompkins DS (1991) Immune responses to Helicobacter pylori in children with recurrent abdominal pain. J Clin Pathol 44:768-771
- 12 Cutler AF, Havstad S, Ma CK et al. (1995) Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose Helicobacter pylori infection. Gastroenterology 109:136-141
- 13 Day AS, Mitchell HM, Bohane TD (2004) Management guidelines for Helicobacter pylori infection: Utilization by paediatric gastroenterologists in Australia. J Paediatrics Child Health 40:195-205

- 14 Dockter G (1999) Lansoprazol oder Omeprazol bei Helicobacter pylori-Infektion und Refluxösophagitis.
Pädiatrische Praxis 3:513-514
- 15 Dooley CP, Cohen H, Fritzgibbons PL, Bauer M, Marshall B, Applemann MD, Perez-Perez GI, Blaser MJ (1989) Prevalence of Helicobacter pylori infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. N Engl J Med 321:1562-1566
- 16 Dragosis BA, Ebert M (2000) Magenkarzinom. In: Malfertheiner P Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 107-118
- 17 Drumm B, Koletzko S, Oderda G (2000) Helicobacter pylori infection in children: A consensus statement.
European Pediatric Task Force on Helicobacter pylori.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 30:207-213
- 18 Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman PM (1990) Intrafamilial clustering of Helicobacter pylori infection.
N Engl J 322:359-363
- 19 European Helicobacter Pylori Study Group (2000) Current Concepts in the Management of Helicobacter pylori Infection. The Maastricht Consensus Report 2-2000. Malfertheiner et al.
J Pediatr Gastroenterol Nutr. 30:208-213
- 20 Falush D, Kraft C, Taylor NS et al. (2001) Recombination and mutation during long-term gastric colonization by Helicobacter pylori: estimates of clock rates, recombination size and minimal age.
Proc Natl Acad Sci USA 98:15056-15061

- 21 Feldmann RA, Deeks JJ, Evans SJW and the Helicobacter pylori serology study group (1995) Multi-laboratory comparison of eight commercially available Helicobacter pylori serology kits. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 14:426-433
- 22 Finck A, Haindl E, Benesch H, Arbabi F, Leodolter A, Malfertheiner P, Cullmann G (2000) A novel enzyme immunoassay for the direct detection of H. pylori antigens in stool. Gut 47:A100
- 23 Gebrauchsanweisung FemtoLab H. pylori Cnx, Connex GmbH, Am Klopfersspitz 19, 82152 Martinsried Germany 17-33
- 24 Gisbert JP, Calvet X, Bujanda L et al. (2003) « Rescue »therapy with rifabutin after multiple Helicobacter pylori treatment failures. Helicobacter 8:90-94
- 25 Gisbert JP, Hermida C, Pajares JM (2001) Are twelve days of omeprazole, amoxicillin and clarithromycin better than six days for treating H. pylori infection in peptic ulcer and in non-ulcer dyspepsia? Hepatogastroenterology 48:1383-1388
- 26 Gisbert JP, Pajares JM (2001) Diagnosis of Helicobacter pylori infection by stool antigen determination. Am J Gastroenterol 96:2829-2838
- 27 Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, McConnell W, Harper WES (1989) Transfer of Campylobacter pylori and Campylobacter mustelae to Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. Nov. and Helicobacter mustelae comb. nov., respectively. Int J Syst Bacteriol. 39:397-405

- 28 Hackelsberger A, Malfertheiner P (1995) Klinische Relevanz und Diagnostik der *Helicobacter pylori*-Infektion.
Diagnose & Labor 45:85-93
- 29 Harris P, Perez-Perez G, Zylberg A (2005) Relevance of Adjusted Cut-off Values in Commercial Serological Immunoassays for *Helicobacter pylori* Infektion in Children.
Dig Dis 11:2103-2109
- 30 Hilgers R, Bauer P, Schreiber V (2003) Einführung in die Medizinische Statistik. Springer, Berlin, Heidelberg, 81-87
- 31 Holtmann G, Layer G, Goebell H (1996) Sind Protonenpumpen-inhibitoren den H₂-Rezeptorantagonisten im Rahmen der H. pylori-Eradikationstherapie überlegen? Metaanalyse vorliegender Parallel-Gruppenvergleiche. Z Gastroenterol 34:267-272
- 32 Hotz J, Madisch A, Peitz U (2000) *Helicobacter* und funktionelle Dyspepsie. In: Malfertheiner P
Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie.
3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 69-81
- 33 Ilver D, Arnquist A, Ogren J et al. (1998) *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. Science 279:373-377
- 34 Jaspersen D (1996) Nachweis der *Helicobacter pylori*-Infektion.
Medwelt 47:47-50

- 35 Jaspersen D, Gerards C (2000) *Helicobacter pylori* und die gastroösophageale Refluxerkrankung (GORD). In: Malfertheiner P *Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie*. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 91-97
- 36 Kato S, Ozawa K, Konno M, Tapiri H, Yoshimura N, Shimizu T, Fujisaawa T, Abukawa D, Minora T, Inuma K (2002) Diagnostik accuracy of the ¹³C-urea breath test for childhood *Helicobacter pylori* infection: a multicenter Japanese study. *Am J Gastroenterol* 97:1668-1673
- 37 Kindermann A, Demmelmair H, Koletzko B, Krauss-Etschmann S, Wiebecke B, Koletzko S (2000) Influence of age on ¹³C-urea breath test results in children in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 30:85-91
- 38 Kist M, Glocker E, Suerbaum S (2005) Pathogenese, Diagnostik und Therapie der *Helicobacter-pylori*-Infektion. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz*, Springer, 48:669-678
- 39 Koletzko B, Reinhardt D (1997) Die *Helicobacter pylori*-Infektion im Kindes- und Jugendalter. *Monatsschr Kinderheilkd* 145:660-678
- 40 Koletzko S (2001) *Helicobacter pylori*-Infektion im Kindes- und Jugendalter. *Monatsschr Kinderheilkd* 149:588-592
- 41 Koletzko S (2005) Noninvasive diagnostic test for *Helicobacter pylori* infection in children. *Can J Gastroenterol* 19:433-439

- 42 Koletzko S, Konstantopoulos N, Bosman D, Feydt-Schmidt A, van der Ende A, Kalach N, Raymond J, Rüssmann H (2003) Evaluation of a Novel monoclonal enzyme immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool from children. *Gut* 52:804-806
- 43 Koletzko S, Konstantopoulos N, Feydt-Schmidt A, Ruessmann H, Bosman D, Van der Ende A, Kalach N, Raymond J (2001) Excellent Performance of a Novel Monoclonal EIA (FemtoLab H. *pylori* Cnx) for Detection of *H. pylori* Antigen in Stool. *Gastroenterology* 120:A492
- 44 Konstantopoulos N, Rüssmann H, Tasch C, Sauerwald T, Demmelmair H, Autenrieth I, Koletzko S (2001) Evaluation of the *Helicobacter pylori* stool antigen test (HpSA) for detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Am J Gastroenterol* 96:677-683
- 45 Kuipers EJ, Pena AS, van Kamp G, Uytterlinde AM, Pals G, Pels NF, Kurz Pohlmann E, Meuwissen SG (1993) Seroconversion for *Helicobacter pylori*. *Lancet* 342:328-331
- 46 Kundt G, Krentz H (2003) *Medizinische Biometrie*. Shaker, 50-64
- 47 Kurzanleitung Pyloriset Screen II (2000), Orion Diagnostika P.O.Box83, 02121 Espoo, Finland

- 48 Labenz J, Barsch G, Peits U, Aygen S, Hennemann O, Tillenburg B et al. (1996) Validity of a novel biopsy urease test (HUT) and a simplified ¹³C-urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and estimation of the severity of gastritis. *Digestion* 57:391-397
- 49 Labigne A, Reuse H (1996) Determinants of *Helicobacter pylori* Pathogenicity. *Infectious Agents and Disease* 5:191-202
- 50 Lamouliatte H, Mégraud F, Delchier JC et al. (2003) Second-line treatment for failure to eradicate *Helicobacter pylori*: a randomized trial comparing four treatment strategies. *Aliment Pharmacol Ther* 18:791-797
- 51 Leodolter A, Dominguez-Munoz JE, Von Armin U, Kahl S, Peitz U, Malfertheiner P (1999) Validity of a modified ¹³C-urea breath test for pre- and posttreatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in the routine clinical setting. *Am J Gastroenterol* 94:2100-2104
- 52 Leodolter A, Malfertheiner P (2001) Aktuelle diagnostische Methoden zum Nachweis der *Helicobacter pylori*-Infektion. *Dtsch Med Wschr* 126:207-209
- 53 Leodolter A, Peitz U, Ebert MP, Agha-Amiri K, Malfertheiner P (2002) Comparison of two enzyme immunoassay for the assessment of *Helicobacter pylori* status in stool specimens after eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 97:1682-1686
- 54 Leodolter A, Wolle K, Malfertheiner P (2001) Current standards in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis* 19:116-122

- 55 Leodolter A, Ziegler K, Lehn H, Malfertheiner P (2001) The H. pylori Antigen Stool Test for Determination of H. pylori Status in General Practice: Is Unfrozen Delivery of Stool Specimens sufficient using a Regular Postal Service? GUT 49:A97
- 56 Levi F, Lucchini F, Gonzalez JR et al. (2004) Monitoring falls in gastric cancer mortality in Europe. Ann Oncol 15:338-345
- 57 Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2000) Brock Mikrobiologie Spektrum Lehrbuch, Gustav Fischer, 544
- 58 Mahdavi J, Sonden B, Hurtig M et al. (2002) Helicobacter pylori SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. Science 297:573-578
- 59 Malaty HM, Evans DG, Evans DG Jr., Graham DY (1992) Helicobacter pylori infection in Hispanics: comparison with blacks and whites of similar age and socioeconomic class. Gastroenterology 103:813-816
- 60 Malfertheiner P (2000) Helicobacter pylori in der Ulkushpathogenese. In: Malfertheiner P Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 83-90
- 61 Malfertheiner P, Mégraud F, O`Morain C (2005) Guidelines for the Management of Helicobacter pylori infection: the Maastrich 3 Consensus Report. Business Briefing. European Gastroenterology Review 2005, 59-60, 998-999

- 62 Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C et al. (2002) Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastrich 2 – 2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 16:167-180
- 63 Malfertheiner P, Peitz U, Wolle K, Treiber G (2004) *Helicobacter pylori* infection – update for the clinician 2004. *Dtsch Med Wochenschr* 129:1821-1826
- 64 Malfertheiner P, Vaira D, Bazzoli F, Gisbert J, Mégraud F, Schütze K (2001) A novel Assay for Detection of *Helicobacter pylori* Antigens in Human Stool Specimens by using Monoclonal Antibodies: An Interim Analysis. *Gut* 49:A97
- 65 Marais A, Monteiro E, Mégraud F (1998) Microbiology of *Helicobacter pylori* In: Westblom TU, Czinn SJ, Nedrud JG *Gastrointestinal Disease and Helicobacter pylori. Pathophysiology, Diagnosis and Treatment*. Springer, Berlin, Heidelberg, 111
- 66 Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Mégraud F (1999) Metabolism and Genetics of *Helicobacter pylori*: the Genome Era. *Microbiol Molecular Biol* 63:642-674
- 67 Marshall B, Warren JR (1984) Unidentified curved bacilli in the stomach of patient with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1:1311-1315
- 68 Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie D, Glancy R (1985) Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med J Aust* 142:436-439

- 69 Martínek J, Kuzela L, Spicak J, Vavrecka A (2000) The clinical influence of *Helicobacter pylori* in effective acid suppression-implications for the treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 14:979-990
- 70 McLoughlin R, Racz I, Buckley M et al. (2004) Therapy of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 9:42-48
- 71 Mégraud F (1993) Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am* 22:73-88
- 72 Mégraud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, et al. (1989) Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J Clin Microbiol* 27:1870-1873
- 73 Mégraud F (1998) Epidemiology and Mechanism of Antibiotic Resistance in *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 115:1278-1282
- 74 Moayyedi P, Soo S, Deeks J et al. (2000) Systematic review and economic evaluation of *Helicobacter pylori* eradication treatment for non-ulcer dyspepsia. Dyspepsia Review Group. *BMJ* 321:659-664
- 75 Morgner A, Neubauer A, Bayerdörffer E (2000) *Helicobacter pylori* und Magenlymphom. In: Malfertheiner P *Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie*. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 99-105
- 76 Morris-Brown L (2000) *Helicobacter pylori*: Epidemiology and Routes of Transmission. *Epidemiologic Reviews*, John Hopkins University School of Hygiene and Public Health, 22:283-297

- 77 Murakami K, Fujiioka T, Okimoto T et al. (2002) Drug combinations with amoxicillin reduce selection of clarithromycin resistance during *Helicobacter pylori* eradication therapy.
Int. J Antimicrob Agents 19:67-70
- 78 Nilius M, Leodolter A, Malfertheiner P (2000) Diagnostische Verfahren bei *Helicobacter pylori*. In: Malfertheiner P *Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie*. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 147-156
- 79 Ojetti V, Migneco A, Zocco MA, et al. (2004) Beta-lactamase inhibitor enhances *Helicobacter pylori* eradication rate.
J Intern Med 255:125-129
- 80 Oksanen A, Veijola L, Sipponen P, Schaumann KO, Rautelin H (1998) Evaluation of Pyloriset Screen, a rapid whole-blood diagnostic test for *Helicobacter pylori* infection.
J Clin Microbiol 26: 955-957
- 81 Okuda M, Sugiyama T, Fukunaga K, Kondou M, Miyashiro E, Nakazawa T (2005) A stain-Specific Antigen in Japanese *Helicobacter pylori* Recognized in Sera of Japanese Children.
Clin Diag Lab Immun 12:1280-1284
- 82 Peits U, Hackelsberger A, Malferthainer P (1999) A practical approach to patients with refractory *Helicobacter pylori* infection, or who are re-infected after standart therapy. *Drugs* 57:905-920
- 83 Radke M (1994) *Helicobacter pylori*-Gastritis bei Kindern. Prävalenz, Symptomatik, Diagnostik und Therapie.
Pädiatrische Praxis 47:223-243

- 84 Sabbi T, De Angelis P, Colistro F (2005) Efficacy of Noninvasive Test in the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infektion in Pediatric Patients
Arch Pediatr Adolesc Med 159:238-241
- 85 Schreiber S, Konradt M, Groll C et al. (2004) The spatial orientation of *Helicobacter pylori* in the gastric mucus.
Proc Natl Acad Sci USA 101:5024-5029
- 86 Sipponen P, Helske PT, Jarvinen P, Hyvarinen H, Seppala K, Siurala M (1994) Fall in the prevalence of chronic gastritis over 15 years: analysis of outpatient series in Finland from 1977, 1985 and 1992. Gut 35:1167-1171
- 87 Stadelmann O (1995) *Helicobacter pylori*: Indikationen und Praxis der Therapie. Deutsches Ärzteblatt 92:2567-2569
- 88 Stolte M (2000) Morphologie der *helicobacter pylori* Gastritis.
In: Malfertheiner P
Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie.
3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 45-58
- 89 Suerbaum S (1994) Molekularbiologische Untersuchungen über Virulenzfaktoren von *Helicobacter pylori* und *Helicobacter mustelae*.
Habilitationsschrift: 8-11
- 90 Suerbaum S (2000) Bakterielle Physiologie und Virulenzfaktoren.
In: Malfertheiner P *Helicobacter pylori – von der Grundlage zur Therapie.* 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 11-20

- 91 Suerbaum S, Maynard Smith J, Bapumia K et al. (1998)
Free recombination within *Helicobacter pylori*.
Proc Natl Acad Sci USA 95:12619-12624
- 92 Sunnerstamm B, Kjerstadius T, Jansson L, Giesecke J, Bergström M, Ejderhamn J (1999) Detection of *Helicobacter pylori* antibodies in a pediatric population: comparison of three commercially available serological tests and one in-house enzyme immunoassay.
J Clin Microbiol 37:3328-3331
- 93 The Eurogast Study Group (1993) Epidemiology of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. Gut 34:1672-1676
- 94 Tomb JF, White o, Kerlavage AR et al. (1997) The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*.
Nature 388:539-547
- 95 Trebesius K, Panthel K, Strobel S, Vogt K, Faller G, Kirschner M, Kist M, Heesemann J, Haas R (2000) Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent in situ hybridisation. Gut 46:608-614
- 96 Treiber G, Opferkuch W (2000) Die Epidemiologie von *Helicobacter pylori*. In: Malfertheiner P *Helicobacter pylori – von der Grundlage zur Therapie*. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 3-10
- 97 Ukarapol N, Lertprasertsuk N, Wongsawasdi L (2004) Recurrent abdominal pain in children: the utility of upper endoscopy and histopathology. Singapore Med J 45:121-124

- 98 Vinette KM, Gibney KM, Proujansky R, Fawcett PT (2004)
Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing H.
pylori infection in pediatric patients.
BMC Microbiol 27:4-5
- 99 Warren JR, Marshall B (1983) Unidentified curved bacilli on gastric
epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1:1273-1275
- 100 Watanabe Y, Aoyama N, Shirasaka D et al. (2003) Levofloxacin
based triple therapy as a second-line treatment after failure of
Helicobacter pylori eradication with standard triple therapy.
Dig Liver Dis 35:711-715
- 101 Weingart V, Rüssmann H, Koletzko S, Weingart J, Höchter W,
Sackmann M (2004) Sensitivity of a Novel Stool Antigen Test for
Detection of Helicobacter pylori in Adult Outpatients before and after
Eradication Therapy. J Clin Microbiol 43:1319-1321
- 102 Weiß C (2002) Basiswissen Medizinische Statistik.
2. Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg 135-142
- 103 Westblom TU, Madan E, Gudipati S, Midkiff BR, Czinn SJ (1992)
Diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult and pediatric
patients by using Pyloriset, a rapid latex agglutination test.
J Clin Microbiol 30:96-98
- 104 Wong WM, Gu Q, Lam SK et al. (2003) Randomized controlled
study of rabeprazole, levofloxacin und rifabutin triple therapie vs.
quadruple therapie as second-line treatment for Helicobacter pylori
infectieion. Aliment Pharmacol Ther 17:553-560

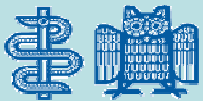
- 105 Xia HH, Talley NJ (1997) Natural acquisition and spontaneous elimination of *Helicobacter pylori* infection.
Am J Gastroenterol 92:1780-1787
- 106 Zambon CF, Basso D, Navaglia F, Mazza S, Razetti M, Fogar P, Greco E, Gallo N, Farinati F, Rugge M, Plebani M (2004) Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: simplified ¹³C-urea breath test stool antigen testing, or DNA PCR in human feces in a clinical laboratory setting? Clin Biochem 37:261-267
- 107 Zullo A, Hassan C, DE F et al. (2003) A third-line levofloxacin-based rescue therapy for *Helicobacter pylori* eradication.
Dig Liver Dis 35:232-336
- 108 Zullo A, Vaira D, Vakil N et al. (2003) High eradication rates of *Helicobacter pylori* with a new sequential treatment.
Aliment Pharmacol Ther 17:719-726

7 *PUBLIKATION UND DANKSAGUNG*

7.1 *Publikation*

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden bei der 102. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin vom 14.-17. September 2006 in Mainz vorgestellt (DGKJ-PS-312).

Schnelltest zum Nachweis einer Helicobacter pylori-Infektion bei Kindern.



J.R. Strein, G. Dockter
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie

Fragestellung:

Ein Vollblutschnelltest¹ wurde mit einem Enzymimmunoassay² im Stuhl bei Kindern verglichen. Es wurde die Helicobacter-Durchseuchung in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht untersucht. Es wurde überprüft, ob der Vollblutschnelltest in der täglichen Praxis als Screening-Methode bei Kindern einsetzbar ist.

¹Pyloriset Screen II, Fa. Orion Diagnostica

²FemtoLab pylori Cnx, Fa. DAKO

Ergebnisse:

Pyloriset Screen II	%
Sensitivität (%)	45,5
Spezifität (%)	97,4
Effizienz (%)	85,7
Positiv prädiktiver Wert	83,3
Negativ prädiktiver Wert	86,1

Methode:

Qualitativer Helicobacter pylori-Antikörper-Schnelltest aus Kapillarblutproben von pädiatrischen Patienten im Vergleich mit einem EIA, dass monoklonale Antikörper im Stuhl detektiert. Letzterer ist bereits mit guten Ergebnissen bei Kindern validiert. Bei dem Schnelltest handelt es sich ebenfalls um ein EIA, das IgG und IgA H. pylori-Antikörper detektiert. Den Patienten wird zur Untersuchung 25µl Kapillarblut entnommen und in die Testkassette pipettiert. Anschließend erfolgt durch Zugabe von Entwickler-Lösung eine chromatographische Trennung, dabei bilden sich typische Bandenmuster aus. Nach 15 Minuten erfolgt die visuelle Auswertung der Testfelder. Im Rahmen der Studie nahmen 50 Patienten, 37 weiblich, 13 männlich, im Alter zwischen 2 und 17 Jahren mit akuten oder chronischen Bauchschmerzen teil.

Diskussion:

Die Ergebnisse zeigen, dass der Schnelltest zwar eine sehr hohe Spezifität aufwies, die Sensitivität war aber unbefriedigend. Fünf der sechs positiven Schnelltestbefunde (83,3%) waren richtig positiv bzw. nur einer falsch positiv. Ein negatives Ergebnis schließt allerdings eine Infektion nicht mit hinreichender Sicherheit aus, da unter allen elf Infektionen nur fünf (45,5%) mittels des Schnelltests erkannt worden waren. Das bedeutet, dass weniger als die Hälfte aller Infektionen bei Kindern mittels Schnelltest erfasst werden können.

Schlussfolgerung:

Bei serologischen Testverfahren, die nicht bei Kindern validiert sind, kommt es zu einem deutlichen Abfall der Sensitivität. Der insgesamt niedrigere kindliche Antikörperspiegel ist durch eine Herabsetzung der Grenzwerte zu berücksichtigen.

7.2 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. med. Gerd Dockter an der Klinik für allgemeine Pädiatrie und Neonatologie der Universitätskliniken des Saarlandes durchgeführt.

Ein besonderer Dank gilt den Kindern und Eltern, die sich an dieser Studie beteiligten. Erst durch ihre engagierte Teilnahme ist diese Arbeit möglich geworden. Für die Vergabe des Themas, die zahlreichen Ratschläge und die geduldige Betreuung danke ich herzlich Herrn Prof. Dr. med. Gerd Dockter.

Meiner Partnerin Nicole danke ich in Liebe für die moralische Unterstützung und ihre große Mithilfe bei der Formatierung des Textes und ihren Support bei Softwarefragen.

Herrn Dr. med. Jürgen Brunner danke ich für die Betreuung meiner Arbeit in den Anfangsmonaten. Herrn Dr. Thomas Gerorg danke ich für seine großzügige Unterstützung bei statistischen Fragestellungen in der Anfangszeit der Arbeit. Für die Auswertung der Statistik danke ich Herrn Dr. med. Edgar Hohlfeldt.

Herrn PD Dr. med. Stefan Gräber danke ich herzlich für die abschließende Kontrolle der Statistik.

Frau Sigried Ströhnlein danke ich für Ihre sachkundige Mithilfe bei der Durchführung der Laborarbeiten und der Probenvorbereitung. Frau Bärbel Palm danke ich für ihre freundlichen Ratschläge bei der Postererstellung.

Besonders danke ich allen Mitarbeitern der pädiatrischen Ambulanz, die mich großzügig bei den Untersuchungen unterstützt haben. Allen Mitarbeitern des gastroenterologischen Labors und Herrn Armin Weber von der Abteilung für experimentelle und klinische Toxikologie der Universität des Saarlandes danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Herrn Jan Kozmiensky und Herrn Nobert Seeger danke ich für ihre Bemühungen beim Korrekturlesen des Skriptes.

8 **LEBENS LAUF**

	Schul Ausbildung
1977 - 1981	Grundschule
1981 - 1983	Förderstufe
1983 - 1987	Realschule
	Ausbildung
01.09.1987 - 31.01.1990	Hoechst AG Frankfurt am Main, Chemikant
	Berufserfahrung
01.02.1990 - 31.07.1990	Hoechst AG Frankfurt am Main Abteilung Marketing Pigmente, Industriezweig Kunststoff
	Fachoberschule
20.08.1990 - 31.03.1991	Bergius-Schule Frankfurt am Main Schwerpunkt chemisch-physikalische Technik
	Rettungssanitäterausbildung
08.04.1991 - 10.08.1991	Malteser Hilfsdienst e. V. Hessen
	Berufliches Gymnasium
12.08.1991 - 14.06.1994	Georg-Kerschensteiner-Schule Obertshausen, Abitur 14.06.1994
	Zivildienst
04.07.1994 - 30.09.1995	Rettungswache Bergen-Enkheim e. V Frankfurt am Main
	Rettungsassistent
01.12.1995	Erlaubnis zur Führung der Berufsbezeichnung Rettungsassistent auf Grund des Rettungsassistentengesetzes vom 10.07.1989
	Studium der Humanmedizin
01.10.1995 - 31.03.1998	Medizinische Universität zu Lübeck (2 Urlaubssemester)
01.04.1998 - 30.09.2000	Julius-Maximilians-Universität Würzburg
01.10.2000 - 30.09.2002	Universität des Saarlandes
01.10.2002 - 12.11.2003	Julius-Maximilians-Universität Würzburg

21.10.2002 - 09.02.2003	Praktisches Jahr Prof. Dr. med. M. Gabriel, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Klinikum Aschaffenburg
10.02.2003 - 06.04.2003	Prof. Dr. med. W. Friedel, Klinik für Unfallchirurgie Klinikum Aschaffenburg
07.04.2003 - 31.05.2003	Prof. Dr. med. R. Engemann, Klinik für Allgemeinchirurgie Klinikum Aschaffenburg
01.06.2003 - 21.09.2003	Priv. Doz. Dr. med. habil. S. Rüttimann, Klinik für Innere Medizin Kantonsspital Schaffhausen Schweiz
03.12.2003 - 02.03.2004	Reise nach Südindien
01.01.2004 - 31.01.2004	Dr. P. K. Rajiv, MD, Department of Neonatology Dr. Krishna Kumar, MD, Department of Paediatric Cardiology Dr. K. Ramakrishnan, MD, Department of General Paediatrics AIMS Hospital Cochin Indien
01.05.2004 - 31.01.2005	Berufserfahrung Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Ebeling, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin Klinikum Aschaffenburg
01.02.2005 - 30.09.2005	Dr. med. Rolf Grenner, Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie SHG Saarlandheilstätten GmbH Saarbrücken
01.10.2005 - 31.03.2006	Promotionsstudium Prof. Dr. med. Gerd Dockter, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Universitätskliniken des Saarlandes
18.11.2005 - 26.11.2005	Fortbildungsseminar in Notfallmedizin Arbeitsgemeinschaft Rettungsdienst Arnsberg
06.12.2005 - 09.12.2005	Notarztwagenpraktikum NEF 7 Nordwest Krankenhaus Frankfurt am Main
01.04.2006 - 30.06.2006	Berufserfahrung Dr. med. Udo Radlow, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Klinikum Friedrichshafen
01.07.2006 - 31.12.2006	Dr. med. Hanspeter Goldschmidt, Klinik für Kinder und Jugendliche Medinet Spessart Klinik Bad Orb
09.12.2006 - 05.03.2007	Reise nach Südindien
01.07.2007	Dr. med. Werner Feth, Dr. med. Stefan Hinze, Klinik für Innere Medizin V, Westpfalz-Klinikum GmbH Rockenhausen

